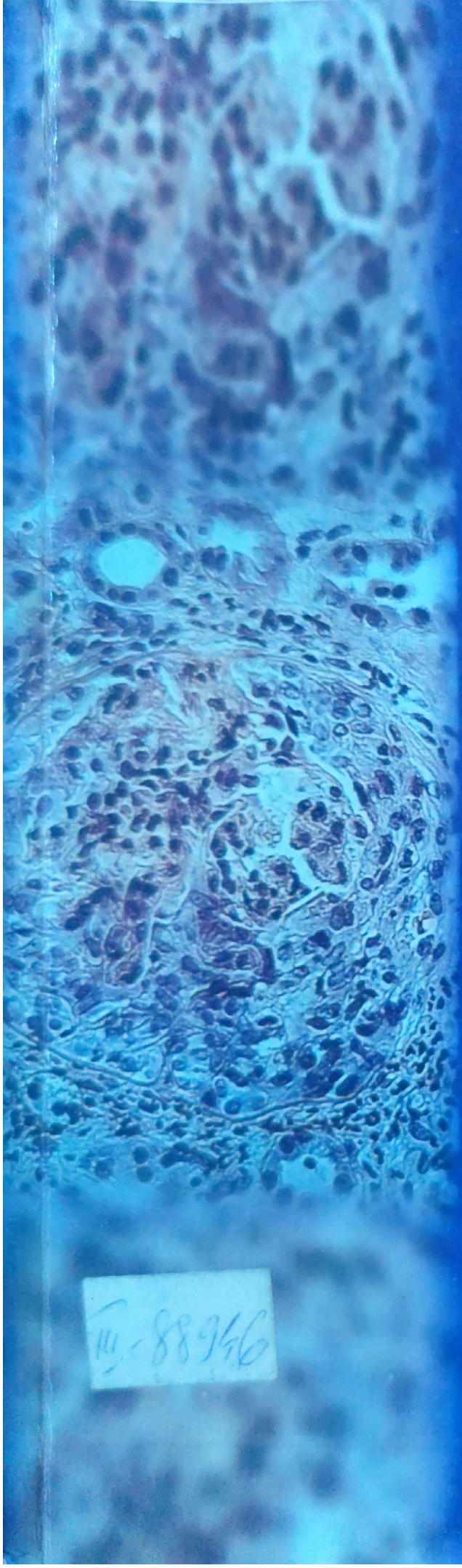

Eugen D. Popescu
Ruxandra Ionescu

Medicină

COMPENDIU DE REUMATOLOGIE

Fil. - 88946

EDITURA TEHNICĂ

Scanned with OKEN Scanner

The 12000 copies of the two previous editions of ESSENTIALS OF RHEUMATOLOGY confirm the fact that this book has found its true place in the Romanian medical literature.

This edition is at the same time similar and different from the previous ones.

The resemblance consists in the maintenance of the same general contents and the original structure of some chapters which has not registred any significant progress in the last 5 years.

The differences are the following:

– the introduction of a large new chapter about immunological problems that the physician needs to know in order that he understands the pathogenic mechanisms;

– the complete rewriting of some chapters, especially those which recorded important meaningful changes;

– the updating of information in the other chapters.

The book aims to present the knowledge that has accumulated in time in the same clear, orderly and concise way as the previous editions, to continue to be widely accessible to students, general practitioners and rheumatologists.

Scanned with OKEN Scanner

1167/2002

Prof. univ. dr. **Eugen D. Popescu** Conf. univ. dr. **Ruxandra Ionescu**

Universitatea de Medicină şi Farmacie „Carol Davila" – Bucureşti

COMPENDIU DE REUMATOLOGIE

Ediția a III-a actualizată şi adăugită

Inv. 340695
BIBLIOTECA U.M.F. IAŞI
Cota II - 8896

BIBLIOTECA U.M.F. IAŞI
BARCOD: 0275052388

EDITURA TEHNICĂ

Bucureşti, 2002

Scanned with OKEN Scanner

Copyright ©, 1993, 1995, 1997, 1998, 1999, 2001, 2002, S.C. Editura TEHNICĂ S.A.
Toate drepturile asupra acestei ediţii sunt rezervate editurii.

Adresă: **S.C. Editura TEHNICĂ S.A.**
Piaţa Presei Libere 1
33 Bucureşti, România
cod 71341

Redactor: **Adina Ionescu**
Procesare P.C.: **Mariana Gheorghiţă**
Coperta: **Roxana Roşu**

Bun de tipar: 19.IX.2002; coli tipo: 24,75
C.Z.U.: 616.002.77
ISBN 973-31-2143-6

Tiparul executat la ***S.C. LUMINA TIPO s.r.l.***
str. Luigi Galvani nr. 20 bis, sect. 2, Bucureşti
tel./fax 211.32.60; tel. 212.29.27

Scanned with OKEN Scanner

CUVÂNT ÎNAINTE

Progresul medicinii clinice este în mare parte dependent de realizările științelor fundamentale, de dezvoltarea tehnicilor de explorare și de cercetările farmacologice.

REUMATOLOGIA este una dintre ramurile medicinii interne care a beneficiat de aceste progrese, mai ales de cele făcute în domeniile imunologiei, geneticii, biochimiei. Structura și funcțiile imunoglobulinelor sunt astăzi clarificate. Există o înțelegere a funcțiilor subpopulațiilor limfocitare, mai ales a rolului lor în reglarea răspunsului imun. Au fost definite multe elemente efectoare, intermediare sau finale ale procesului inflamator. Cunoașterea biochimiei țesutului conjunctiv, a enzimelor proteolitice, a glicozaminoglicanilor a adus multe clari-ficări ale patogeniei unor boli. S-au imaginat multiple procedee diagnostice mai ales de ordin biochimic și s-au extins în domeniul reumatologiei metode de diagnostic folosite și în alte discipline. Terapia bolilor reumatice a fost completată cu clase noi de medicamente antiinflamatoare sau imunodeprimante. Folosirea anticorpilor monoclonali a deschis noi perspective terapeutice.

În ultima vreme au fost descrise noi entități clinice (entesite, vasculite), s-au identificat etiologii infecțioase virale sau bacteriene. Studii epidemiologice ample, ca și metaanalizele unor cercetări anterioare au schimbat uneori optica clinică, patogenia sau terapia unor boli. Conexiunile reumatologiei cu alte ramuri ale medicinii interne ca nefrologia, pneumologia, cardiologia, hematologia, endocrinologia, dermatologia solicită din partea reumatologului cunoștințe în aceste domenii.

Bogăția de informații în oricare domeniu de medicină internă a făcut ca în ultimele decenii, tratatele, monografiile sau lucrările de sinteză asupra unor probleme să fie revizuite în ediții care se succed la 3-5 ani. In aceeași linie se înscrie și această a treia ediție a Compendiului de Reumatologie. *Autorii au făcut eforturi pentru a aduce la zi capitolele de patologie reumatică, selecționând dintr-o masă de informații pe cele pe care le-au considerat importante în înțelegerea patogenică sau atitudine terapeutică. Completările aduse capitolelor au fost*

Scanned with OKEN Scanner

proporționale cu cantitatea de noțiuni noi, cu frecvența suferinței în populație, cu importanța problemei și cu interesul trezit în lumea cercetării. Unele capitole au beneficiat de informații suplimentare, alte capitole au fost în întregime rescrise și s-a adăugat un mare capitol de imunologie fundamentală, ale cărui noțiuni au fost socotite necesare pentru înțelegerea patogeniei multor boli.

Contribuția autorilor la această lucrare a fost următoarea: dr. Ruxandra Ionescu este autoarea capitolelor 5, 6, 8, 9, 11, 15, 16, 17, iar prof. dr. Eugen D. Popescu a elaborat celelalte capitole și a revăzut întreaga lucrare.

Autorii nutresc speranța că această a treia ediție va fi primită la fel de bine ca și primele două.

București
August 1997

Autorii

Scanned with OKEN Scanner

CUPRINS

1. Noţiuni de imunologie fundamentală 11
Antigenul 12
Arcul imun aferent - Structură 18
Celule şi organe 18
Celule prezentatoare de antigen 18
Celule şi organe limfatice 22
Circulaţia limfocitelor 32
Molecule participante la procesul imun 33
Molecule de adeziune 33
Citokine 35
Arcul imun aferent - Funcţionalitate 37
Răspunsul imun humoral 38
Activarea limfocitelor B 38
Imunoglobuline 43
Activarea limfocitelor T prin superantigene 54
Răspunsul imun celular 54
Arcul imun eferent - Structură 55
Celule 55
Factori serici 57
Sistemul complementului 57
Sistemul kininelor plasmatice 59
Sistemul coagulării şi fibrinolizei 60
Derivaţii acidului arahidonic 60
Arcul imun eferent - Funcţionalitate 61
Activitatea efectoare a limfocitelor B 62
Complexe imune 62
Liza celulară prin complement 65
Citotoxicitate mediată de anticorpi 65
Activitatea efectoare a limfocitelor T 65
Producerea de limfokine 66
Citoliza 67
Celule NK 67
Leziuni tisulare prin mecanism imun 68
Hipersensibilitatea imediată 69
Reacţia citotoxică 69
Reacţia prin complexe imune 70
Reacţia imună mediată celular 70
Reacţia de hipersensibilitate tardivă 71
Reacţia citolitică 72
Inflamaţia şi vindecarea 72
Inflamaţia acută 73
Modificări vasculare 73
Diapedeza şi fagocitoza leucocitară 73
Mediatori chimici ai inflamaţiei 74
Inflamaţia cronică 76
Infiltratul mononuclear 76
Fibroza 77
Granulomul 77
Efectele sistemice ale inflamaţiei 77
Bibliografie 78
2. Ţesutul conjunctiv 79
Structura ţesutului conjunctiv 79
Celule 79
Fibre 80
Substanţa fundamentală 84
Funcţiile ţesutului conjunctiv 86
Tipuri de ţesut conjunctiv 87
Ţesutul conjunctiv lax 87
Ţesutul conjunctiv dens 87
Ţesutul conjunctiv elastic 87
Ţesutul conjunctiv reticular 88
Ţesutul adipos 88
Ţesutul cartilaginos 88
Ţesutul osos 89
Metabolismul fosfocalcic 93
Articulaţii 94
Articulaţia diartrodială 95
Bibliografie 96
3. Examenul clinic al bolnavului reumatic 97
Bibliografie 106

Scanned with OKEN Scanner

1

NOȚIUNI DE IMUNOLOGIE FUNDAMENTALĂ

Sistemul imunitar este implicat în patogenia multor afecțiuni umane. Participarea lui în producerea și întreținerea bolilor reumatice inflamatorii este determinantă și foarte bine argumentată. Nivelul cunoștințelor a coborât foarte mult în profunzime, ajungându-se în prezent ca în unele domenii informațiile să fie la nivel de aminoacid. Însușirea datelor la aceste cote este foarte greoaie și cu utilitate restrânsă pentru medicul clinician care trebuie să navigheze pe o treaptă care să-i permită înțelegerea fenomenelor și în același timp să-l ferească de a se îneca într-o mare de amănunte care să-l îndepărteze de bolnav.

În cele ce urmează vor fi inserate câteva informații din imunologia fundamentală, selectate după criteriul utilității în înțelegerea bolilor reumatice. Ele sunt utile și pentru apropierea unor noi și ingenioase soluții terapeutice care vizează ruperea lanțului patogenic imun, deseori inițiator sau contribuabil la declanșarea sau întreținerea unor boli.

Sistemul imun este unul dintre sistemele sau aparatele organismului cu cea mai complexă organizare și funcționare. În condiții de normalitate el este responsabil de apărarea organismului față de agenți agresori infecțioși (bacterii, virusuri etc.) sau biologici (cum sunt de exemplu grefele).

Disfuncțiile cu imunodeficiență creează predispoziții la infecții și posibil la tumori. De asemena, situațiile de hiperactivitate a sistemului imun pot conduce spre stări clinice de boală foarte gravă uneori fatală. In alte stări disfuncționale, sistemul imun își poate pierde capacitatea de a distinge selful de nonself, situație care este la originea bolilor autoimune.

Pentru ușurința înțelegerii, informațiile sunt grupate în mai multe părți.

Inițial sunt trecute în revistă câteva noțiuni despre antigene. Apoi sunt detailate componentele structurale (celulare și biochimice) ca și funcționalitatea arcului imun aferent prin care se generează elementele replicii imune, adică limfocite sensibilizate și imunoglobuline specifice, ambele modalități adaptate antigenului agresor.

Structura și funcționalitatea arcului imun eferent, ca: celulele, substanțele solubile participante, constituie o nouă parte.

În final sunt comentate tipurile de reacții imune și inflamația, cale finală comună a multor tipuri de agresiuni.

Scanned with OKEN Scanner

Schematic, un proces imun este o succesiune de evenimente care se desfășoară ordonat și cu participarea mai multor tipuri de celule, celule care sunt în comunicare permanentă, atât prin contact direct, cât și prin intermediul unor substanțe chimice.

La celulele aparatului imun, ca la toate celulele organismului, proteinele membranare au rol structural sau funcțional (receptori, enzime etc.). Toate aceste molecule proteice de suprafață, denumite până recent după funcția lor, au fost de curând marcate cu literele CD urmate de o cifră. Până acum au fost descrise peste 150 de varietăți moleculare. Însemnelor CD li se dau diverse semnificații ca: Cluster Designation, Cluster Determinant, Cluster of Differentiation, Classe de Differentiation și au survenit ca rezultat al cercetărilor ce au utilizat anticorpi monoclonali pentru identificarea acestor proteine.

ANTIGENUL

Procesul imun este declanșat de antigen. Acesta este definit ca o substanță macromoleculară, cel mai adesea străină organismului, care este capabilă să declanșeze un răspuns imun specific, adică să creeze limfocite sensibilizate sau să inducă secreție de Ig specifice. La inducerea unui răspuns imun nu este implicată întreaga moleculă de antigen ci numai anumite fragmente care poartă numele de *determinant / locus / grupare / situs antigenic sau epitop.* În general, epitopul este format dintr-o secvență de 5-20 aminoacizi sau unități zaharice.

Antigenul complet este cel care poate induce el însuși un răspuns imun.

Antigenul incomplet (haptena), pentru a fi activ, are nevoie să fie cuplat în prealabil cu un suport proteic.

Din punct de vedere chimic, antigenele cele mai puternice sunt cele proteice, glucidele sau lipidele fiind antigenice numai după legare cu un substrat proteic. Lumea microorganismelor (bacterii, virusuri etc.) constituie o foarte bogată sursă de antigene de diverse structuri.

În cele ce urmează vor fi detailate două tipuri mai particulare de antigene implicate în patologia reumatică.

O atenție specială trebuie acordată antigenelor de histocompatibilitate, antigene care intervin în mod decisiv în procesul imun. Acestea au căpătat o mare importanță mai ales de când se practică transplantul de organ, situație care impune găsirea unei cât mai apropiate relații genetice între donator și primitor. În plus s-a observat incidența mare a unor boli la populația de un anumit tipar genetic, susținând ideea predispoziției genetice spre o anumită maladie. Exemplul spondilitei anchilozante întâlnită cu o mare incidență la indivizii grupului HLA B27 este sugestiv.

Sinteza tuturor proteinelor din organism se face după o informație cuprinsă în materialul nuclear aranjat în cromozomi. Între proteinele structurale se deosebesc unele care sunt caracteristice fiecărui individ, oferindu-i acestuia o identitate particulară. Fiind proteine, ele sunt deci antigenice și sunt determinante

Scanned with OKEN Scanner

în acceptarea sau respingerea grefelor de organ, deoarece mobilizează sau nu aparatul imun ce le recunoaşte ca structuri proprii sau străine. Aceste proteine structurale, specific individuale, au primit din această cauză denumirea de *antigene de histocompatibilitate*. Informaţia necesară sintezei lor se găseşte într-o zonă a braţului scurt al cromozomului 6, zonă care a fost denumită generic *complex major de histocompatibilitate* (MCH = Major Histocompatibility Complex). La om ea este menţionată cu denumirea de HLA (Human Lymphocyte Antigens, altă semnificaţie fiind Human Leucocyte Antigens), deoarece markerii serologici au fost identificaţi prima oară pe limfocite. Zona este compusă din patru loci principali inseraţi astfel de la periferie spre centromer: A, C, B, D (fig.1.1). În interiorul regiunii cromozomiale HLA se înscriu şi genele de control ale sintezei componentelor 2 şi 4 şi a factorului B properdinic din proteinele sistemului complementului, genele unor enzime (21 hidroxilaza sistemului citocromic P-450), ale TNF (tumor necrosis factor α şi β) şi altele. Antigenele generate de genele locilor A, C şi B sunt considerate antigene majore sau de clasa I, iar cele formate de genele grupului D (DP, DQ şi DR) sunt de clasa a II-a. Deoarece antigenele de clasa I pot fi identificate cu uşurinţă serologic ele au fost denumite şi *antigene SD* (Serologically Defined), iar cele de clasa a II-a detectabile prin cultură mixtă de limfocite, poartă şi numele de *antigene LD* (Lymphocyte Defined). Se mai descriu şi antigene de clasa a III-a care sunt proteine ale sistemului complement. Ele îşi au genele în intervalul dintre HLA clasa I şi cele de clasa a II-a.

Genele sistemului HLA dictează deci sinteza de glicoproteine care determină identitatea antigenică a organismului. Aceste glicoproteine se găsesc pe suprafaţa tuturor celulelor, dar densitatea lor este diferită la diversele tipuri de celule. Ea este, de asemenea, variabilă în timp, în funcţie de expunerea celulei la diverse substanţe activatoare. Cele mai multe antigene HLA sunt exprimate pe celulele splenice şi trombocite, iar cele mai puţine se găsesc pe celulele din creier. Între ele, în ordine descrescătoare se înscriu celulele pielii, pulmonului, rinichiului, ficatului, cordului, celula endotelială corneană. Hematiile nu au antigene HLA probabil pentru că sunt celule fără nucleu. Trombocitele, deşi sunt elemente figurate anucleate, sunt de fapt zone periferice membranare ale unei celule cu nucleu foarte mare şi activ, megacariocitul, explicând astfel bogăţia în antigene HLA.

Cele două clase de HLA au o distribuţie diferenţiată pe celulele organismului.

Fiecare locus cromozomial (A, C, B sau D) şi în consecinţă fiecare glicoproteină corespunzătoare, se găseşte în diverse variante structurale (alele) care au fost marcate prin cifre. De exemplu HLA - A4 (A = locus, 4 = alelă, variantă). Alelele locusului care nu au fost încă recunoscute oficial poartă însemnul w (workshop), de exemplu HLA Cw3. Trebuie subliniat faptul că atât locusul cromozomial cât şi proteina structurală care îi corespunde sunt însemnate identic, purtând aceleaşi litere şi cifre. În prezent locusului HLA A i s-au identificat 24 alele, locusului C 11 variante, locusului B, 52 alele. Zona locusului D este codificată de gene din trei subregiuni (DR, DQ, DP), fiecare prezentând 20, 9 şi respectiv 6 variante alelice. În plus, unele antigene HLA D nu sunt produsul unor

Scanned with OKEN Scanner

gene specifice, ci sunt rezultatul unor combinaţii genetice codificate de locii celor trei regiuni majore ale zonei D. Ele sunt în număr de 26. Regiunea D mai are şi trei subregiuni minore (DX, DN, DO) ce constau din 1-2 gene ale căror produse nu sunt cunoscute în prezent, din care cauză sunt considerate pseudogene. Astfel numărul combinaţiilor antigenice posibile este uriaş (cel puţin 24 x 52 x 11 x 20 x 9 x 6 x 26).

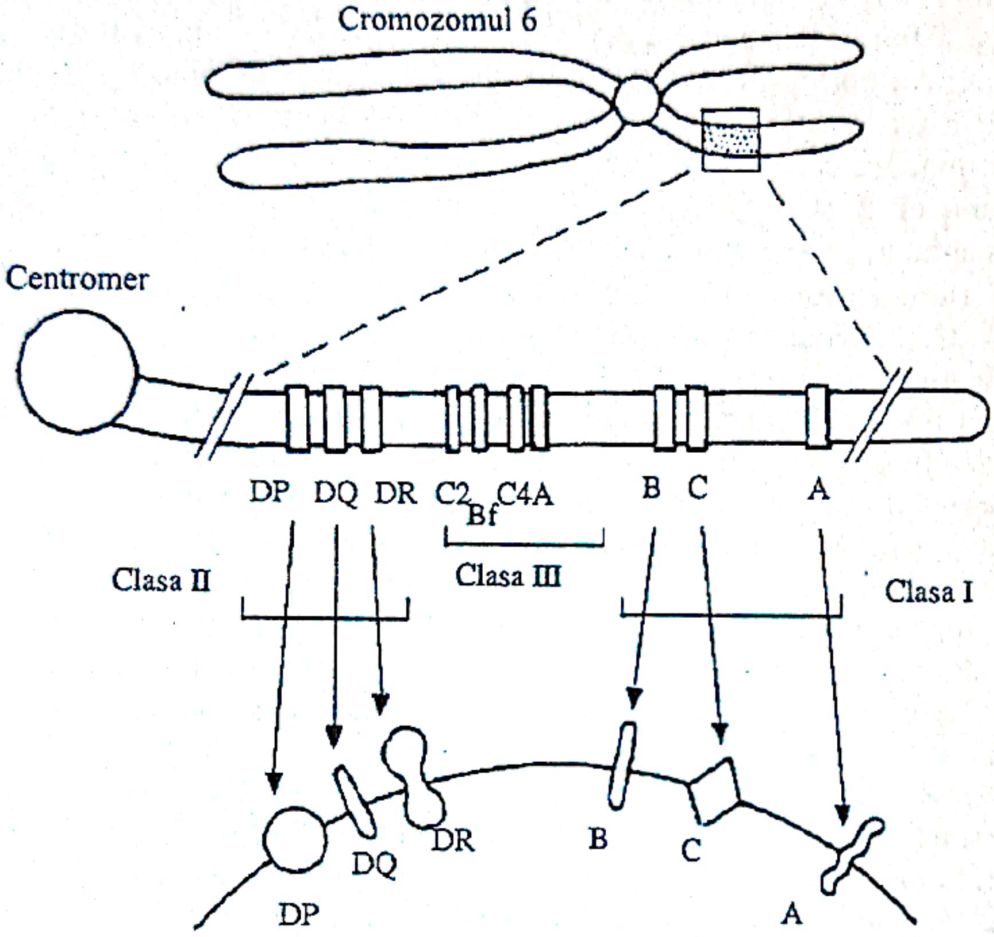

Fig.1-1. Complexul major de histocompatibilitate

Fiecare persoană prezintă antigene HLA moştenite de la mamă (jumătate) şi de la tată (jumătate).

Structura generală a antigenelor glicoproteice HLA este de două tipuri. Elementele fiecărui tip sau clasă se deosebesc între ele prin structura chimică.

Antigenele din clasa I (sinteză dictată de locii A, C şi B) care se află pe suprafaţa tuturor celulelor nucleate şi a trombocitelor au o foarte mare putere antigenică. Ele sunt principalele antigene recunoscute în timpul reacţiei de expulzie a grefei. Din acest motiv se mai numesc şi *antigene majore de histocompatibilitate.* În citoliza mediată celular (corespondentul in vitro al expulziei de grefă) celulele K (killer) recunosc şi au drept ţintă antigenele clasei I. Aceste antigene sunt compuse din două lanţuri moleculare. Unul, lanţul α, considerat şi lanţ greu, este o glicoproteină a cărei structură este determinată de genele amintite ale sistemului HLA (A, C şi B). Cealaltă componentă, lanţul β, socotit şi lanţ uşor, este o β2

microglobulină a cărei sinteză este controlată de o genă a cromozomului 15. Ea este identică la indivizii unei specii, astfel că polimorfismul exprimat de antigenele de clasa I este datorat exclusiv lanţului α. Lanţul β, spre deosebire de lanţul α, nu este ancorat în structura membranei celulare. Legătura lanţurilor α şi β este de tip necovalent (fig.1.2).

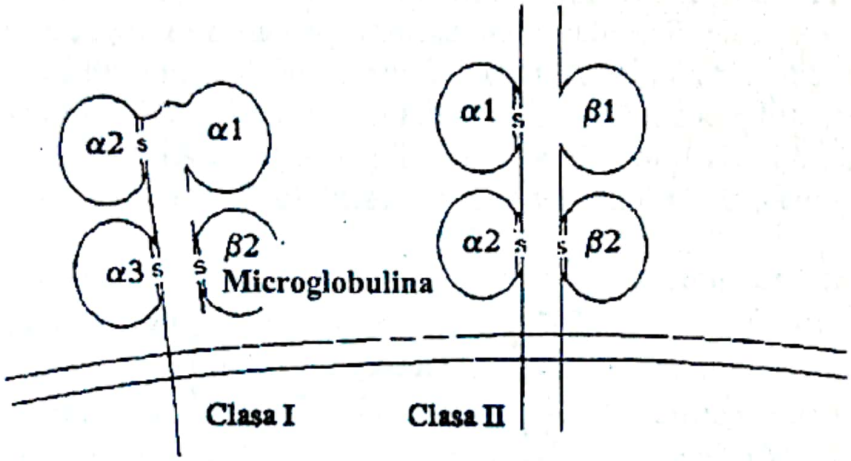

Fig.1-2. Structura antigenelor de histocompatibilitate clasa I şi II

Locusul D codifică sinteza antigenelor din clasa a II-a. Acestea se află pe suprafaţa limfocitelor B şi T activate, a limfocitelor T în repaus (cantitate redusă), a monocitelor/macrofagelor, a celulelor Langerhans din piele, a unor celule endoteliale (după activare), enterocite vilozitare, celulele epiteliale ale căilor respiratorii etc. Antigenele din clasa a II-a sunt compuse, de asemenea, din două lanţuri polipeptidice (α şi β) unite necovalent, ambele ancorate în membrana celulei. Lanţul α are o structură foarte puţin variabilă. Lanţul β are un polimorfism accentuat. El conţine majoritatea epitopilor HLA (fig.1.2). Expresia moleculelor HLA din clasa a II-a este amplificată de unele citokine ca IFN-γ, IL-4, IL-13, TNF α şi β şi este deprimată de PGE2. În derularea procesului imun moleculele HLA clasa a II-a se recunosc cu moleculele CD4 de pe unele limfocite T.

Produsele regiuninii HLA D sunt implicate în prezentarea antigenului de către macrofag limfocitului şi în procesul de colaborare între celulele imunocompetente în timpul procesului imun.

Moleculele HLA din clasa I se evidenţiază la majoritatea celulelor, dar cu predilecţie pe limfocite şi macrofage. IFN α şi β le amplifică sinteza şi exprimarea pe membrană. În timpul răspunsului imun ele au ca pereche de recunoaştere moleculele CD8 ce caracterizează unele limfocite T.

O altă categorie de antigene care merită o atenţie deosebită, fiind frecvent implicate şi relatate în bolile autoimune sunt ***antigenele nucleare***. Determinarea

anticorpilor a căror formare este indusă de antigenele nucleare are deseori valoare diagnostică importantă. Dintre elementele cu putere antigenică se numără constituenţi ai cromatinei ca şi enzime de localizare nucleară.

Cromatina este materialul cromozomial extras din nucleu. Ea este compusă din molecule foarte lungi de ADN dublu catenar, proteine mici bazice denumite histone, proteine nehistonice (acide) şi foarte puţin ARN.

Histonele sunt heterogene din punct de vedere chimic, diversele tipuri fiind marcate H1, H2A, H2B, H3, H4. Octameri de histone [(2H3-2H4) +2(H2A-H2B)] formează particule discoidale (nucleosomi) pe care se înfăşoară câte două ture de ADN. Firul foarte lung de ADN aglomerează nucleozomii, în a căror conectare un rol important îl joacă histona H1. Astfel histonele (puternic cationice) fixează ferm şi nespecific ADN (puternic anionic) (fig.1.3). Dacă ADN este o substanţă foarte slab antigenică, alipirea la histone îi sporeşte foarte mult această proprietate.

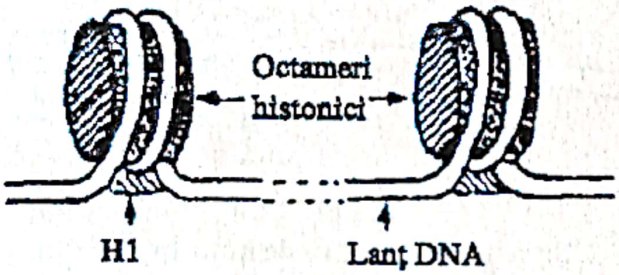

Fig.1-3. Nucleosomi

Structurile cromatiniene reprezintă o ţintă majoră pentru răspunsul autoimun, indicând o varietate largă de anticorpi, faţă de ADN, histone, complexe ADN-histone, anticorpi care apar predominant în lupusul eritematos sistemic sau în alte boli de colagen. Dintre proteinele nehistonice care induc formare de autoanticorpi, cele marcate HMG (High Mobility Group) 14 şi 17 se întâlnesc în aceeaşi boală.

În metafază, moleculele de ADN sunt puternic comprimate (de circa 8000 de ori), generând cromozomi ale căror cromatide surori sunt conectate de un centromer care induce formare de anticorpi în sclerodermie şi în sindromul CREST. O altă structură nucleară ce oferă o gamă largă de antigene este nucleolul, loc de sinteză şi asamblare a subunităţilor ribozomale. Aici se găsesc câteva sute de polipeptide diferite şi multe molecule mici de RNP (small nucleolar RNP - snRNP), toate având capacităţi antigenice. Între acestea sunt de menţionat cele marcate U1, U2, U3, U4, U5, U6 şi altele.

În timpul diviziunii celulare nucleolii dispar, suportul material găsindu-se lângă cromozomi în zone denumite NOR (Nucleous Organizing Regions). În afară de NOR se mai cunosc şi alte antigene nucleolare care se evidenţiază în timpul fazelor ciclului celular, ca proteinele Ki, PCNA/cyclin (Proliferating Cell Nuclear Antigen), Ma (prezentă la 20% dintre bolnavii cu lupus formă severă).

Scanned with OKEN Scanner

Proteinele nehistonice nucleare au rol structural sau funcţional în reglarea expresiei genetice sau sunt enzime. Ele pot deveni antigenice. Dintre enzime trebuie reţinute câteva care au proprietatea de a induce formarea de anticorpi întâlniţi frecvent în patologia reumatică. ARN polimerazei-1 (enzimă care de fapt este localizată în nucleol unde transcrie rARN) i s-au identificat anticorpi corespunzători în sclerodermie. Dintre polimerazele ADN, cea denumită ADN topoizomeraza-1 (identificată cu antigenul Scl-70) induce formarea de anticorpi specifici sclerodermiei. O altă enzimă cu capacităţi antigenice este şi aminoacil-transferaza.

O altă categorie de antigene întâlnite în bolile reumatice sunt localizate în citoplasmă şi sunt constituite tot din molecule mici de RNP (small cytoplasmic RNP - scRNP). Intre ele se numără cele marcate Ro, Jo 1, SRP (Signal Recognition Particle), ultima fiind implicată în transmiterea unor mesaje genetice la nivel de mARN.

In ultimul timp s-a descris o specie particulară de antigene denumite în mod generic ***superantigene***. Acestea spre deosebire de antigene nu sunt fagocitate şi prelucrate de macrofage. Ele au capacitatea de a se fixa pe molecule de pe exteriorul celulei, ataşându-se de MHC clasa a II-a de pe macrofag şi de lanţul β al receptorului pentru antigen de pe limfocitul T (T Cell Receptor = TCR). Astfel sunt activate mult mai multe limfocite (1-10% dintre limfocitele T periferice) decât sunt activate în mod clasic cu un antigen obişnuit care este iniţial fagocitat şi apoi prelucrat de macrofag. In cazul stimulării imune prin superantigene eliberarea de limfokine este foarte abundentă cu toate consecinţele clinice majore. In clasa superantigenelor se numără unele toxine bacteriene şi unele proteine retrovirale (fig.1.4).

După penetrarea în organism, antigenele exogene au trei posibilităţi de acces la celulele imunocompetente.

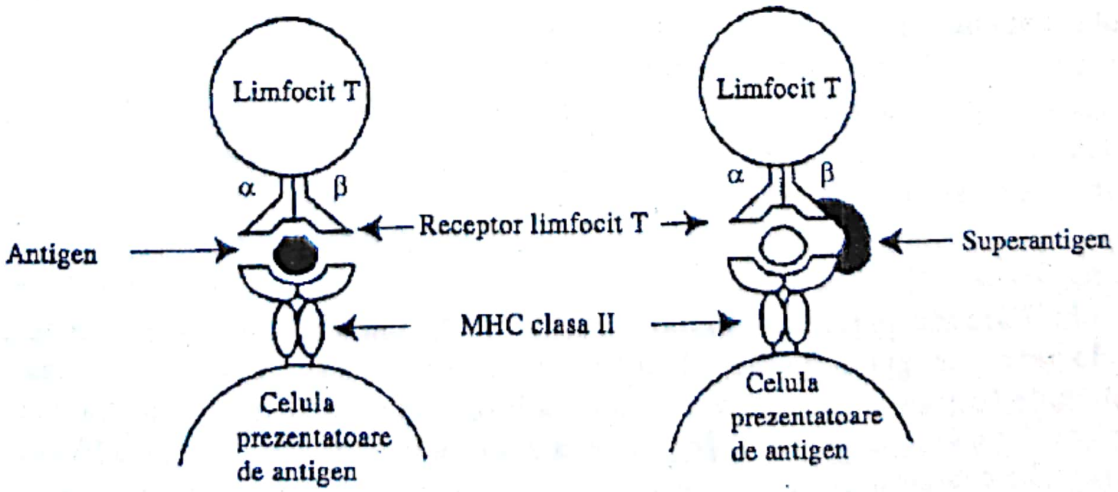

Fig.1-4. Acţiunea superantigenului

Când antigenul ajunge direct în sânge, el este transportat în splină, unde, în urma contactului cu macrofagele şi limfocitele locale, vor rezulta elementele efectoare, anticorpii sau limfocitele sensibilizate.

Când antigenul are acces pe cale cutanată sau subcutanată, acesta fie liber, fie captat de celule Langerhans este transportat spre ganglionul limfatic de drenaj. Aici se realizează procesul imun, iar elementele efectoare sunt transportate în sânge prin canalul toracic şi difuzate apoi în tot organismul.

Accesul antigenului pe calea mucoasei gastrointestinale sau respiratorii determină efectuarea procesului imun chiar în ţesutul limfatic localizat aici. Anticorpii vor acţiona local, iar limfocitele B sau T vor putea migra şi spre alte locuri de rezidenţă.

ARCUL IMUN AFERENT
- STRUCTURĂ -

Funcţia aparatului imun implică două etape importante: o fază *aferentă* prin care se formează elementele efectoare specifice faţă de agresorul imun care sunt de ordin molecular (imunoglobuline specifice) sau celular (limfocite sensibilizate) şi o fază *eferentă* prin care aceste elemente specifice îndepărtează sau anihilează agresorul antigenic.

În arcul aferent al procesului imun sunt implicate celule prezentatoare de antigen şi limfocite (T şi B) ca şi elemente chimice cu rol în comunicarea intercelulară (citokine şi molecule de adeziune). Procesul imun este declanşat de antigen. Acesta este definit ca o substanţă macromoleculară, cel mai adesea străină organismului, care este capabilă să declanşeze un răspuns imun specific, adică să creeze limfocite sensibilizate sau să inducă secreţie de Ig specifice. La inducerea unui răspuns imun nu este implicată întreaga moleculă de antigen ci numai anumite fragmente care poartă numele de *determinant/locus/grupare/situs antigenic* sau *epitop*. În general, epitopul este format dintr-o secvenţă de 5-20 aminoacizi sau unităţi zaharice.

CELULE ŞI ORGANE

CELULE PREZENTATOARE DE ANTIGEN

Celulele prezentatoare de antigen (CPA) sunt celulele care captează şi prelucrează antigenul făcându-l utilizabil pentru procesul imun. Ele eliberează substanţe cu proprietăţi activatoare asupra limfocitelor T şi substanţe stimulatoare pentru alte celule în procesul de sinteză a unor molecule de adeziune. CPA sunt de mai multe categorii:

– fagocite mononucleare (celulele sistemului monocit/macrofag),

– celule dendritice Langerhans,

Scanned with OKEN Scanner

– celule dendritice foliculare,

– limfocite B.

Macrofagul este o celulă cu diametrul de 10-25 μm, cu nucleu mare, cu multe granule lizozomale şi cu multe vacuole în citoplasmă. Aceste celule se nasc din seria monocitară a sistemului hematopoietic. Cele mai tinere celule identificate în măduva osoasă sunt monoblastul şi promonocitul. După 2-3 diviziuni celulare se nasc monocitele care părăsesc măduva şi circulă în sânge timp de 1-2 zile. Ele migrează apoi în ţesuturi. Aici se maturează în macrofage adulte tisulare. Procesul de maturare implică creşterea dimensiunii, amplificarea aparatului mitocondrial şi lizozomal, dezvoltarea proprietăţii de fagocitoză, de sinteză proteică, apariţia de receptori pe suprafaţa celulei. Macrofagul adult are o capacitate de proliferare redusă ce poate fi amplificată de un factor glicoproteic elaborat de fibroblaşti, de limfocite sau de alte macrofage. Durata de viaţă a macrofagului este de câteva luni.

Macrofagele tisulare au căpătat nume specifice în funcţie de locul lor de rezidenţă. Cele din ţesutul conjunctiv se numesc *histiocite*, cele din ficat celule *Kupffer*, cele din sistemul nervos celule *microgliale*, cele din os *osteoclaste*, cele din sinovială *sinoviocite* de tip A. Macrofagele se mai găsesc din abundenţă în pulmon (macrofage *alveolare*), cavităţi seroase (macrofage *pleurale* şi *peritoneale*), în ganglion şi splină şi în număr mai mic în alte organe.

Din punct de vedere funcţional se disting macrofage în stare de repaus şi macrofage activate. Procesul de activare nu este specific ca în cazul limfocitelor. El poate fi realizat sub influenţa multor stimuli nespecifici ca: citokine (IFN-γ este cel mai puternic), contactul cu un antigen, cu substanţe mitogene sau cu endotoxine bacteriene. Activarea interesează în egală măsură macrofagele tisulare nestimulate, ca şi monocitele circulante recrutate în timpul desfăşurării evenimentelor imune.

Totalitatea macrofagelor de diverse localizări constituie sistemul fagocitar mononuclear, denumit şi *sistemul monocit/macrofag* sau *reticulo-endotelial* a cărui funcţie majoră este apărarea împotriva bacteriilor intracelulare şi a fungilor. Macrofagul este celula care în majoritatea cazurilor iniţiază un mecanism imun. Procesul de apărare implică mai multe etape: chemotaxia, aderarea, ingestia şi digestia.

Chemotaxia macrofagelor spre zonele infectate sau inflamate este determinată de mai mulţi factori. Între ei se înscriu un fragment al complementului (C5a), prostaglandina E2 (PGE2), diverşi produşi bacterieni şi unii factori elaboraţi de limfocitele B şi T. Tot cu rol în migrarea macrofagelor se înscriu şi substanţele care inhibă mobilitatea întâmplătoare a lor şi le fixează la locul inflamaţiei. Printre ele se numără unele limfokine (factorul de inhibiţie al migrării macrofagelor însemnat în mod curent MIF, factorul de activare a lor etc.) şi unele enzime proteolitice produse în timpul activării complementului şi sistemului fibrinolitic (plasmina).

Procesul de aderare a diverselor materiale la suprafaţa macrofagului este uşurat de existenţa receptorilor: imuni şi neimuni. Dintre cei neimuni sunt de reţinut cei care recunosc proteine denaturate, hidrocarburi complexe şi glicoproteine care se termină în fucoză şi manoză. Ele au un rol în recunoaşterea şi

Scanned with OKEN Scanner

alipirea celulelor senescente, a eritrocitelor heterologe, a fungilor, a bacteriilor şi a paraziţilor. Receptorii care recunosc complexul α2-macroglobulin-proteinază sunt angajaţi în eliminarea enzimelor ca trombina, plasmina, kalikreina şi a unor componente activate ale complementului. Fibrina circulantă sau cea de la locul inflamaţiei este epurată graţie unor receptori specifici.

În categoria receptorilor imuni se identifică receptori Fc pentru mai multe clase de Ig şi pentru unele fracţii de complement (C3b şi C3d).

Receptorii pentru IgG sunt de trei tipuri: FcγRI (=CD 64, fixează IgG1, IgG3, IgG4), FcγRII (=CD32, fixează IgG1, IgG3±IgG2), FcγRIII (=CD16, fixează IgG1, IgG3).

Pentru moleculele de IgE se descriu pe suprafaţa monocitelor receptori specifici, FcεRII (tipul *a* cu rol în dezvoltarea celulei B şi tipul *b* cu rol în citotoxicitate celulară mediată de anticorpi). Receptorii FcεRI se găsesc pe mastocite şi pe bazofile.

Pentru receptorii FcαR, FcμR şi FcδR sunt mai puţine informaţii. Activarea acestor receptori prin fixarea moleculelor de Ig stimulează fagocitoza şi viaţa metabolică a celulei. Numărul receptorilor imuni poate creşte în procesul inflamator de 4 ori. Microorganismele opsonizate au o aderare mult mai uşoară datorită Ig (opsonine) şi fracţiilor de complement fixate pe suprafaţa lor.

Ingestia elementelor aderate se face prin fagocitoză sau pinocitoză. Particulele fixate prin receptori imuni sau neimuni sunt înconjurate de membrana celulară care şi-a concentrat receptorii pe această zonă şi apoi prin plicaturare interioară formează o veziculă denumită *fagozom.*

Elementele solubile din mediu sunt incluse în vezicule de pinocitoză care sunt introduse în celulă. Vacuolele fagocitare sau pinocitare sunt apoi transportate în zona perinucleară unde sunt conectate cu alt tip de vezicule (lizozomi) încărcate cu enzime hidrolitice. Prin fuziune se creează unităţi fagolizozomale.

Digestia materialului care a suferit endocitoză are loc în fagolizozomi. Marea varietate enzimatică (peste 40 de tipuri) asigură o degradare hidrolitică pentru orice substrat. Se întâlnesc aici fosfataze, ribonucleaze, deoxiribonucleaze, proteaze, lipaze, glicozidaze, esteraze etc. Fragmentele rezultate după degradare au de obicei o masă moleculară sub 200 daltoni. Aceste subunităţi sunt integrate în circuitul metabolic celular sau sunt eliminate. Fragmentele membranei celulare purtătoare de receptori care au fost încorporate intracelular ca fagozomi pot fi protejate de digestie şi reintegrate în structura membranei sau pot fi degradate enzimatic. Reîncorporarea receptorilor Fc în membrana celulei durează 6-24 ore.

Prin activitatea lor, macrofagele conferă organismului o puternică capacitate de apărare antibacteriană. Unele bacterii reuşesc totuşi să supravieţuiască în interiorul celulei interferând unele etape ale degradării. Astfel *Trypanosoma cruzi* perforează membrana fagozomală şi scapă în citoplasmă. *Mycobacterium tuberculosis* şi *Toxoplasma* previn fuziunea lizozomilor cu fagozomii, iar *Mycobacterium lepraemurium* are un perete celular rezistent la hidroliză.

Capacitatea secretorie a macrofagului este foarte mare. Această celulă poate produce peste 100 de substanţe. Limfocitele stimulate, variaţiile de

Scanned with OKEN Scanner

*p*H tisular, angajarea receptorilor de pe suprafaţa membranei celulare sunt numai câteva dintre elementele foarte variate ce controlează compoziţia şi calitatea secreţiilor.

Dintre elementele secretate trebuie subliniată activitatea catabolică a elastazelor şi colagenazelor asupra macromoleculelor structurale ale ţesutului conjunctiv: elastină, colagen, proteoglicani. Elastazele degradează în plus fibronectinul, fibrinogenul, moleculele de imunoglobuline.

De asemenea, după stimulare, macrofagul elaborează o serie de mediatori (IFN, IL, TNF-α, NO, PAF, factori de angiogeneză, PG, LT etc.) ce influenţează funcţionalitatea altor celule.

Între secreţiile macrofagului se numără şi unii factori de coagulare (V, VII, IX, X, protrombina, tromboplastina), fracţii de complement (1-9, properdina, B, D, I, H), radicali activi ai oxigenului.

Macrofagul intervine, de asemenea, în procesul de cicatrizare prin fagocitoza ţesuturilor debridate, prin reglarea funcţionalităţii celulelor endoteliale şi a fibroblaştilor, prin rezorbţia osoasă, prin eliminarea celulelor moarte, a eritrocitelor deteriorate.

Macrofagul participă în procesul imunitar ca celulă ce prezintă antigenul limfocitului T. În răspunsul imun mediat humoral la antigene timodependente, antigenul suferă în macrofag o digestie controlată, prin care se protejează determinanţii antigenici. Aceştia, după o unire prealabilă cu proteinele MHC, sunt expuşi pe suprafaţa celulei. Complexul antigen-MHC interacţionează cu celulele T.

În timpul procesului imun nu toate macrofagele exprimă molecule MHC, ceea ce face ca în cooperarea macrofag-limfocit să fie implicate numai o parte a macrofagelor.

În afara procesului de cooperare celulară, macrofagul intervine şi în reglarea imună prin influenţele nespecifice asupra proliferării limfocitelor T (prin arginază, IFN-γ, PGE2) şi prin control specific (IL-1).

Celulele dendritice Langerhans au originea în măduva osoasă. Ele se găsesc în piele unde formează o reţea în stratul bazal şi în epiteliului scuamos. Se mai găsesc în ganglion în ariile T dependente. Celulele dendritice Langerhans au prelungiri fine care intră în contact cu limfocitele. Ele au o putere foarte dezvoltată de captare a antigenului şi un nivel înalt de expresie a MHC clasa a II-a, ceea ce le conferă şi o mare capacitate de prezentare a antigenului. Având receptori pentru complement (C3b) şi pentru Fc, beneficiază de proprietatea de a fixa ferm complexele imune. Fiind mobile, voiajează în organism în căutarea limfocitelor T specifice antigenului. Sunt implicate mai ales în hipersensibilitatea cutanată de contact. Proliferează după activare antigenică, iar unele dintre ele migrează în cortexul profund al ganglionului limfatic de drenaj.

Celulele dendritice foliculare, celule de origine necunoscută, se găsesc în foliculul limfatic, în centrii săi germinativi. Având receptori specifici pentru Fc şi pentru C3b, ele fixează puternic şi pentru perioade lungi de timp complexe imune antigen-anticorp şi antigen-anticorp-complement. Multitudinea de arborizaţii le permite un contact intim cu limfocitele B, ele prezentând acestora antigenul ca atare, nedegradat sau în complexe imune într-un proces independent de prezenţa MCH.

Scanned with OKEN Scanner

Limfocitele B exprimă moleculele MHC clasa a II-a cu mare intensitate. Prin moleculele imunoglobulinice de suprafaţă (receptori) aceste celule leagă antigenele proteice, pe care le internalizează şi le prelucrează exprimând apoi la suprafaţă complexe peptide-MCH clasa a II-a. Prezentarea acestora către limfocitele Th, ca şi secreţia de limfokine (IL-6, TNF-α) creează condiţia activării reciproce a ambelor linii celulare B şi T. Capacitatea limfocitului B de a se comporta ca celulă prezentatoare de antigen depinde de vârsta celulei, celulele foarte tinere neavând această proprietate.

De fapt primele celule care participă la lanţul procesului imun sunt macrofagele şi celulele Langerhans, celule care fixează antigenul şi interacţionează cu limfocitele T. Limfocitele B au o capacitate limitată de a funcţiona ca celule prezentatoare de antigen pentru că au o capacitate redusă de prelucrare a antigenului.

Funcţia principală a limfocitelor B rămâne cea de a sintetiza Ig.

În afara celor patru tipuri de celule menţionate, rolul de celule prezentatoare de antigen mai poate fi jucat şi de alte celule. Între acestea se numără *celulele endoteliale* ale unor zone vasculare, ca şi *celulele epiteliale* ale tubului proximal renal şi ale tractului gastrointestinal, care pot exprima pe suprafaţa lor (sub anumite stimulări, de exemplu: IFN-γ), moleculele MHC clasa a II-a, situaţie ce conferă celulelor menţionate capacitatea de a prezenta antigenul.

CELULE ŞI ORGANE LIMFATICE

Limfocitul este celula fundamentală a aparatului imun. Celula limfatică primitivă se diferenţiază în sacul vitelin din celula primordială multipotentă. Celulele cu destinaţie evolutivă limfocitară care provin din ea migrează în organele limfatice centrale, primare (timus şi măduva osoasă), unde suferă diferenţieri sub influenţa unor factori locali de mediu, în afara oricăror contribuţii antigenice. Procesul de maturare deplină are loc însă în organele limfatice secundare, periferice.

Limfocitele suferă un proces de recirculaţie permanentă, proces prin care se asigură o supraveghere imună competentă cu un număr relativ redus de celule.

Originea celulelor limfatice. În prezent este acceptată ideea naşterii precursorilor tuturor seriilor celulare sanguine (granulocitară, eritrocitară, megacariocitară, monocitară, limfocitară) dintr-o celula suşă pluripotentă denumită *celula stem.* Această celulă originară în lacurile sanguine embrionare ale sacului vitelin se caracterizează printr-o proliferare extensivă, printr-un proces de autoreînnoire permanentă şi prin posibilitatea diferenţierii spre diverse linii celulare. Părăsind locurile de origine prin fenestraţii sinusoidale, ea trece în circulaţie şi populează organele hematopoetice embrionare (ficat, splină, măduvă osoasă) şi pe cele limfatice primitive.

Organe limfatice primare; diferenţierea limfocitelor. Organele limfatice primare (centrale) sunt organe limfoepiteliale derivate din joncţiunea

Scanned with OKEN Scanner

ectoendodermică în asociere cu epiteliul intestinal. In aceste sedii, sub influenţe locale, celula multipotentă este convertită în elemente limfoide prin trepte succesive de diferenţiere, independent de stimulare antigenică. Neavând căi aferente şi nici modalităţi de captare şi prelucrare a antigenului, organele limfatice centrale nu au capacitatea de răspuns imun. Ele sunt specializate numai în geneza de celule limfoide. Cele două serii de limfocite (T şi B) se deosebesc între ele prin locul de origine şi prin caracterele morfofuncţionale. La om cele două organe limfatice centrale implicate în formarea de limfocite sunt timusul (pentru limfocitele T) şi măduva osoasă (pentru limfocitele B). Denumirea de T şi B indică locul genezei (Thymus şi Bone marrow = măduvă osoasă).

Diferenţierea limfocitelor B are loc în organele limfatice primare care la om în perioada prenatală sunt ficatul şi măduva osoasă. Aici sub influenţe locale se diferenţiază limfocitele B din celulele stem. Primele limfocite B sunt detectate în ficatul fetal uman la vârsta de 5-7 săptămâni. Ele sunt recunoscute datorită prezenţei în citoplasmă a lanţurilor grele μ ale moleculei de IgM (cIgM). Ulterior apar şi alte semne distinctive cum sunt IgM de suprafaţă (sIgM) şi receptori pentru unele fracţii de complement (C3). Postnatal, majoritatea limfocitelor B derivă din măduva osoasă. Părăsind organele centrale, limfocitele B populează zonele timoindependente ale organelor limfatice secundare (ganglion şi splină). In acest timp densităţile sIgM şi receptorilor pentru C3 cresc. Procesul de maturare este independent de influenţele mediului. El implică şi alte modificări ale structurii biochimice citoplasmatice şi membranare. Limfocitele B devin celule imunocompetente mature. Pe suprafaţa lor apar şi receptori pentru antigen de tip IgD alături de cei IgM deja existenţi. Până la contactul cu antigenul, limfocitele B sunt socotite inocente, virgine. Contactul cu antigenul schimbă tipul receptorilor.

Limfocitele B se pot împărţi în diverse seturi şi subseturi celulare pe baza funcţiei, a felului antigenelor membranare. Ele au însă ca funcţie principală secreţia de Ig. Când câştigă această proprietate după stimulare antigenică, se mai numesc şi plasmocite sau celule formatoare de anticorpi.

Pe suprafaţa externă a limfocitelor B se găsesc mai multe feluri de markeri, între care unii au funcţie de receptori, ca cei pentru antigen, pentru fragmentul Fc al moleculelor de Ig, pentru moleculele de adeziune etc.

Receptorii specifici pentru antigen sunt de structură imunoglobulinică şi sunt implantaţi pe suprafaţa externă a limfocitelor B. Recunoaşterea şi cuplarea antigenului corespunzător de către un astfel de receptor reprezintă unul dintre punctele de plecare în desfăşurarea procesului imun. Receptorii imunoglobulinici sunt fixaţi pe membrana limfocitară prin capătul lor Fc, lăsând liberă extremitatea Fab de cuplare cu antigenul. Cum s-a arătat deja, în procesul de diferenţiere celulară, limfocitele B nu prezintă în faza de celulă precursoare nici un fel de receptor pentru antigen. Ulterior sunt sintetizate lanţurile grele de tip μ, după care receptorul devine mai complex, fiind constituit din molecule complete de IgM monomeric. La celula matură şi/sau în procesul de activare imună apar şi receptori imunoglobulinici de tip IgD. În răspunsul imun secundar când secreţia de imunoglobuline este predominant de tip IgG, receptorul pentru antigen este de tip IgG. Receptorii pentru antigen sunt distribuiţi pe suprafaţa celulei într-un mod

neomogen, insular, dar datorită proprietăţilor fluide ale membranei celulare ei suferă o rearanjare şi redistribuire permanentă.

În afara receptorilor specifici pentru antigen (de structură imunoglobulinică), pe suprafaţa celulei se găsesc receptori de recunoaştere a însăşi moleculelor de Ig. Ei au fost denumiţi *receptori Fc* (FcR) datorită faptului că identifică segmentul omolog al moleculei de Ig. Nomenclatura internaţională actuală îi marchează şi cu însemnele CD, ca de fapt pe toate proteinele de membrană. CD este urmat de numere ce caracterizează diferitele tipuri de lanţuri grele de Ig, de exemplu CD16 = FcγRIII, CD23 = FcεRII etc. Interacţiunea receptorului limfocitar cu fragmentul Fc imunoglobulinic are loc numai după unirea anticorpului cu antigenul, situaţie urmată de modificări moleculare stereochimice ale fragmentului Fc. Deoarece fragmentele Fc ale Ig prezintă specificitate de clasă, înseamnă că şi receptorii Fc vor fi deosebiţi din acest punct de vedere. Astfel receptorul Fc al IgG poate fi identificat prin testul rozetei cu eritrocite de oaie sensibilizate cu IgG specifice. Existenţa acestor receptori se observă la microscopul optic când eritrocite de oaie acoperite cu anticorpi IgG antieritrocitari sunt puse în contact cu celule B. Se formează un halou (rozetă) de eritrocite în jurul fiecărui limfocit B.

Pe suprafaţa unui limfocit B s-au identificat şi alte tipuri de receptori.

Virusul Epstein-Barr are capacitatea de a se fixa pe limfocitele B pe un receptor specific (CD21), stimulând în mod continuu şi nespecific replicarea celulară şi secreţia policlonală de Ig.

Unele fracţii pentru complement au receptori specifici pe celula B. Ei sunt diferiţi pentru C3b (CD35), C3d, C4, C1q.

Limfocitele B au pe suprafaţa lor moleculele complexului major de histocompatibilitate (MHC) din clasa a II-a ca şi macrofagele şi celulele dendritice. Dintre MHC clasa a II-a, celulele B exprimă produsele genelor HLA DR, molecule implicate în prezentarea antigenului de către macrofag limfocitelor T.

Suprafaţa celulei B mai este şi sediul unor receptori pentru hormoni sau produse ale celulei T şi a mai multor markeri CD a căror semnificaţie este încă neclară.

Alţi markeri de suprafaţă întâlniţi sunt proteinele de adeziune ca LFA-1, ICAM-1, CD22, L-Selectina.

Din punct de vedere funcţional, al dezvoltării şi al exprimării antigenelor de suprafaţă, limfocitele B pot fi împărţite în trei categorii:

Celulele B primare, "convenţionale", reprezintă majoritatea celulelor B la un adult neimunizat. Diversitatea repertoriului de recunoaştere a antigenului este foarte mare. Acest subset celular are pe suprafaţa sa receptori IgM, IgD, antigene MHC din clasa a II-a, antigen de suprafaţă termostabil (Heat Stable Antigen = HSA). Celulele răspund foarte puternic la toate categoriile de antigene şi la diverse substanţe mitogene;

Celulele B CD5 reprezintă o mică proporţie de limfocite B, cu excepţia nou născutului şi a cavităţii peritoneale a adultului. Au foarte puţini receptori IgD. Se pot converti în plasmocite, dar nu formează centri germinativi şi nici celule cu memorie. Aceste celule exprimă markerii CD5 (specifici liniei T) şi Mac1

Scanned with OKEN Scanner

(specifici macrofagului). Ele sunt caracterizate de capacitatea de a produce mari cantităţi de IL-10, în acelaşi timp având nevoie de aceasta pentru dezvoltarea lor. Dezvoltă un răspuns cantitativ superior la antigene bacteriene, iar anticorpii produşi au o reactivitate încrucişată largă. Celulele B CD5 produc spontan o mare cantitate de IgM, fiind responsabile de prezenţa acestui tip de anticorpi în serurile neimune. Atât celulele B CD5, cât şi anticorpii pe care îi produc joacă un rol foarte mare în apărarea antibacteriană. Limfocitele din leucemia limfatică cronică poartă aproape în totalitate proteina de suprafaţă CD5;

Celulele B cu memorie se caracterizează prin faptul că exprimă cantităţi reduse de antigen termostabil şi de molecule receptori de tip IgD şi IgM, ele putând prezenta imunoglobuline de suprafaţă de alte tipuri. Se găsesc în centrii germinativi şi sunt specializate în păstrarea unui răspuns imun de mare afinitate faţă de microorganisme. După stimularea antigenică ele generează clone de celule B secundare, dar nu produc molecule de Ig antigen specifice.

Diferenţierea limfocitelor T are loc în timus, organ care apare foarte devreme în embriogeneză şi prezintă o dezvoltare completă la naştere. După pubertate suferă un proces de involuţie, proces indus probabil de hormonii corticoizi şi androgeni. Timusul este format din doi lobi, fiecare dintre ei prezentând o zonă centrală (medulară) şi o zonă periferică (corticală). În medulară se găsesc corpii Hassall în al căror centru se află celule degenerate, cheratinizate sau spaţii chistice. Rolul acestor corpusculi este incomplet elucidat. Tot aici se mai găsesc şi celule limfocitare mici, asemănătoare celor din sângele periferic, foarte rezistente la acţiunea cortizonului.

Celulele corticalei sunt într-o foarte vie activitate de multiplicare, cu un indice mitotic de circa 10 ori mai mare ca cel al ganglionului periferic. Majoritatea limfocitelor (90-95%) rezultate după 5-7 trepte de multiplicare mor pe loc fără a părăsi timusul. Se consideră că este vorba de aşa-zisul contigent distrus, compus din clonele celulare corespuzătoare antigenelor proprii. Distrugerea lor împiedică apariţia procesului de autoimunitate. Puţinele limfocite viabile trec în circulaţie după un pasaj prin medulară, unde capătă identitate de limfocite T. Cea mai mare parte a limfocitelor care părăsesc timusul o fac pe cale sanguină şi foarte puţine folosesc calea limfatică. Pentru timus este caracteristic faptul că nu are decât vase limfatice eferente. Limfocitele care au părăsit timusul vor popula apoi zonele timodependente din ţesutul limfatic periferic. In timpul staţionării proliferative în timus, celulele limfoide dezvoltă izoantigene de suprafaţă. La om ele au o structură glicoproteică. În procesul de maturare a celulei T unele dintre aceste antigene dispar, iar altele noi apar. In acelaşi timp se schimbă şi echipamentul enzimatic intracelular. Limfocitele T imature conţin deoxinucleotidil-transferază terminală (TDT), iar celulele mature prezintă α-naftolacetat-esterază (ANAE). Concomitent cu evenimentele menţionate, pe suprafaţa celulei apar diverse clase de receptori şi alte tipuri de proteine.

Transformările descrise sunt induse de polipeptide cu greutate moleculară mică (aproximativ 10 000 daltoni) considerate a fi hormoni timici (timopoetină, timozină etc.).

Scanned with OKEN Scanner

Cum s-a spus, în procesul de maturare a limfocitelor T apar temporar sau permanent noi proprietăţi şi markeri de diferenţiere (enzime, glicoproteine, receptori specifici). De asemenea, în stări de activitate unele limfocite T exprimă pentru perioade limitate markeri caracteristici.

Unul dintre markerii de suprafaţă cei mai importanţi ai limfocitului T matur este receptorul specific pentru antigen (T Cell Receptor = TCR). Acest receptor ce recunoaşte antigenul specific este compus din două componente: receptorul propriu-zis (însemnat Ti) şi un complex polipeptidic invariabil (marcat CD3) (fig.1.5).

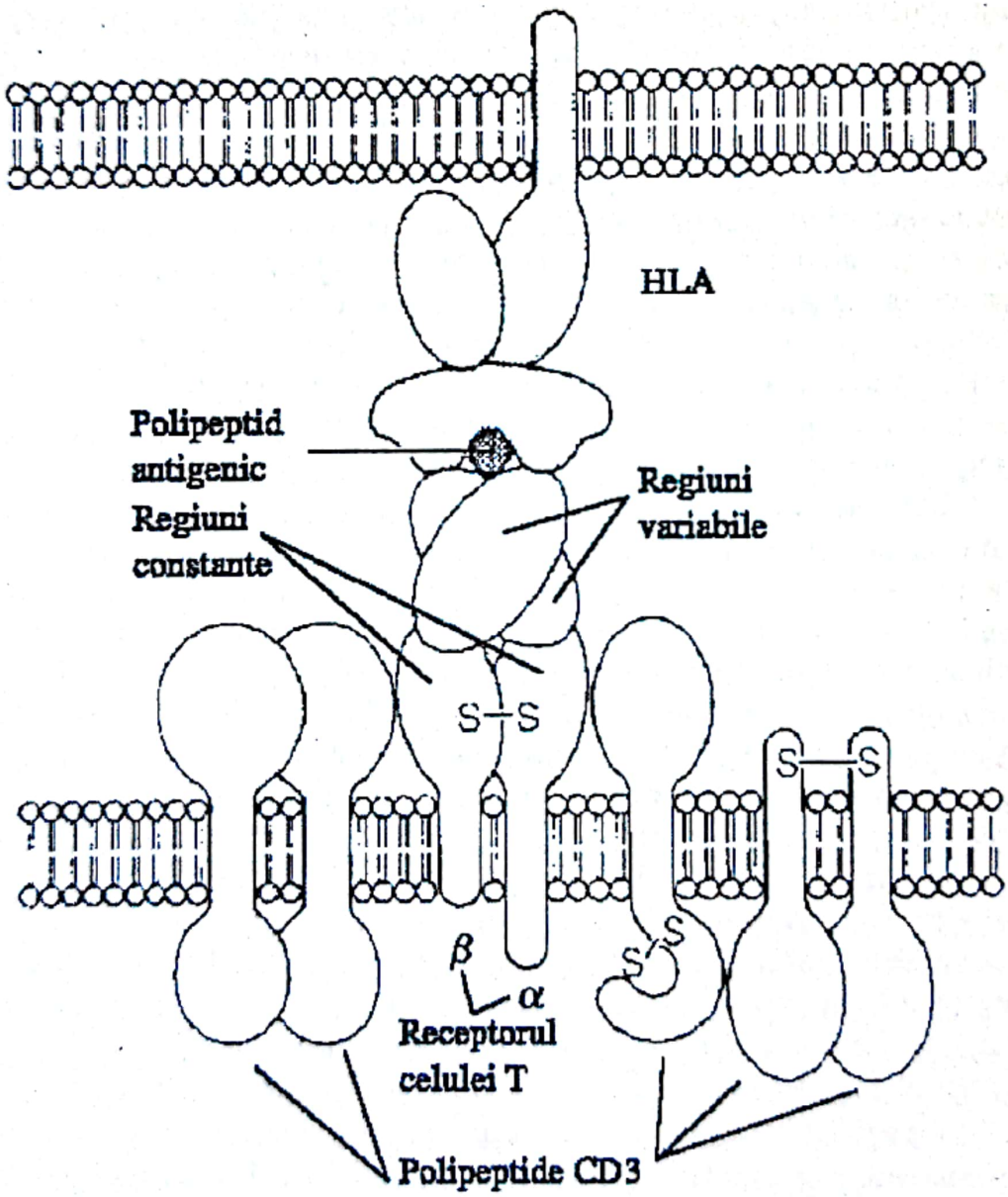

Fig.1-5. Complexul TCR - CD3

Scanned with OKEN Scanner

Receptorul pentru antigen a fost identificat folosindu-se anticorpi monoclonali față de determinanții idiotipici ai locusului combinativ, de unde și numele de Ti (i de la idiotip). Între determinanții idiotipici ai TCR și cei ai moleculelor de Ig există o mare similitudine. Partea de recunoaștere a antigenului din structura TCR este compusă din două lanțuri moleculare cu o organizare foarte asemănătoare imunoglobulinelor. Sunt identificate patru tipuri de lanțuri moleculare: α, β, γ și δ. Perechile de lanțuri întâlnite în structura TCR sunt fie αβ, fie γδ. Un limfocit T prezintă numai un singur fel de pereche, αβ (TCR2) sau γδ (TCR1), niciodată ambele. Fiecărui polipeptid i se identifică o secvență hipervariabilă de aminoacizi, analoagă celei din structura imunoglobulinică unde poartă numele de *Complementary-Determining Region* (CDR).

Genele care codifică atât structura imunoglobulinelor cât și a receptorului Ti sunt similare. De aceea ele mai sunt cunoscute și sub denumirea de *superfamilia genelor imunoglobulinice*, iar produsele lor constituie superfamilia imunoglobulinelor (fig.1.6).

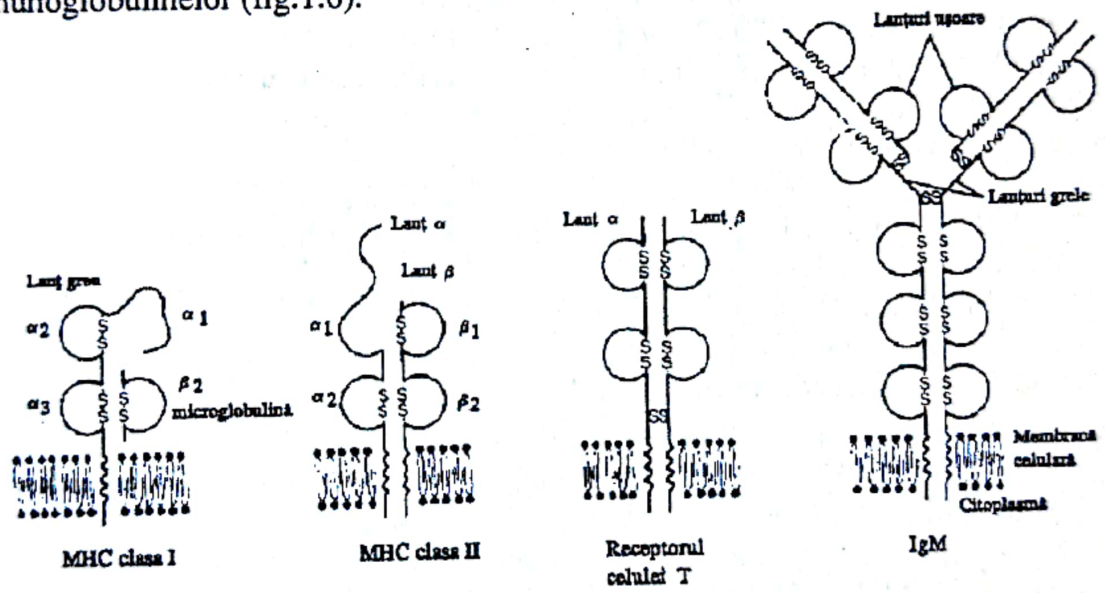

Fig.1-6. Superfamilia imunoglobulinelor

Organizarea genelor umane care codifică lanțurile amintite are câteva caractere. Pentru lanțurile α și β se folosesc segmentele de gene V și J într-un mod asemănător sintezei lanțurilor ușoare ale imunoglobulinelor, iar pentru lanțurile γ și δ, segmentele de genă V, D și J se comportă ca în sinteza lanțurilor grele imunoglobulinice (vezi controlul genetic al sintezei de Ig). Într-o linie germinativă, genele Vα și Vβ sunt de cel puțin 10 ori mai numeroase ca cele Vγ și Vδ, de aceea celulele purtătoare de TCR αβ (95%) depășesc numeric pe cele de tip γδ (5%). Principiile generale de rearanjare genetică sunt aceleași ca pentru imunoglobuline. Excluderea alelică, ca și în cazul imunoglobulinelor, face ca o celulă T să nu aibă decât o singură specificitate antigenică. Celulele T γδ, mai puțin numereoase, apar în timus înaintea celor αβ și sunt lipsite de moleculele CD4. Unele exprimă însă CD8.

Scanned with OKEN Scanner

CD3 este complexul polipeptidic care se găseşte pe suprafaţa limfocitelor T în asociere necovalentă cu Ti. El este compus din 5 polipeptide de structură constantă indiferent de tipul şi specificitatea pentru antigen a celulei T.

Pe suprafaţa limfocitului T se găsesc şi alţi markeri importanţi în funcţia imună a celulei. Printre ei se numără cei marcaţi CD4 şi CD8. Aceştia "conlucrează" cu molecula MHC în timpul prezentării antigenului de către macrofag spre celula T. Aceste molecule de structură constantă, deşi sunt socotite molecule accesorii, joacă un rol important în interacţiunea celulei T cu alte celule non-T. Prezenţa CD4 pe limfocitul T se asociază cu recunoaşterea moleculelor MHC clasa a II-a de pe celula prezentatoare de antigen, iar existenţa CD8 este necesară recunoaşterii moleculelor de clasa I. Receptorul CD4 este locul de fixare al virusului HIV (Human Immunodeficiency Virus) şi de penetrare a acestuia în limfocitul T.

Alţi markeri CD prezenţi pe suprafaţa limfocitului T matur sunt CD2 şi CD5. CD2 este un receptor ce interacţionează cu molecula LFA-3 (CD58) care se găseşte pe multe celule, inclusiv pe eritrocitele de oaie. Datorită acestei afinităţi (CD2 - CD58), eritrocitele de oaie (nesensibilizate, neacoperite de molecule de Ig) se dispun "în rozetă" în jurul limfocitelor T, fenomen folosit pentru identificarea şi numărarea acestora din urmă.

Despre CD5 de pe suprafaţa limfocitului T se ştiu puţine lucruri.

Între moleculele de suprafaţă ale celulelor T se mai numără şi moleculele MHC de clasa I şi a II-a.

În afara moleculelor CD2, CD4 şi CD8, cu rol în adeziunea celulară, pe celulele T, ca şi pe alte multe celule, se mai găseşte o moleculă de adeziune, numită LFA-1 (Leucocyte Function Associated antigen-1 = CD11a). Prin LFA-1 celula se cuplează cu molecula ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1 = CD54) de pe altă celulă.

Din punct de vedere funcţional limfocitele T pot fi împărţite în mai multe clase:

Limfocite T citotoxice (Tc) provoacă liza celulelor ţintă purtătoare de antigen. Ele aparţin grupului de limfocite T care poartă markerul de suprafaţă CD8 (limfocite CD8+). Activitatea lor este îndreptată împotriva celulelor tumorale, a celor infectate viral şi a celor transplantate. Interacţiunea dintre limfocitele Tc, pe de o parte, şi celulele cu antigenele tumorale sau infectate viral pe de altă parte, are loc numai în cazul în care cei doi competitori exprimă acelaşi MHC de clasa I. Fenomenul poartă numele de restricţia MHC. El nu acţionează în cazul expulziei de grefă ci numai în cazul celor două situaţii anterior menţionate, de citoliză a celulelor cu antigene tumorale sau infectate viral.

Limfocitele T helper (Th) au markerul de suprafaţă CD4 (limfocite CD4+). Ele recunosc antigenul specific care este prezentat în asociere cu MHC clasa a II-a. Limfocitele Th colaborează cu macrofagele şi cu limfocitele B în răspunsul imun humoral (producere de Ig) sau cu alte tipuri de limfocite în cazul răspunsului imun celular (producere de limfocite Tc). În cadrul clasei de limfocite Th se identifică două subgrupe Th1 şi Th2.

Scanned with OKEN Scanner

Celulele Th1 sunt implicate în fenomenul de citotoxicitate (în apariţia şi dezvoltarea limfocitelor Tc), în producerea de IgG2 şi în reacţia inflamatorie (prin secreţia de IFN-γ, TNF α şi β, IL-2 şi IL-3).

Celulele Th2 coordonează secreţia de IgE, IgA şi IgG1, secretă IL care amplifică formarea anticorpilor (IL-4,5,6), comută secreţia de Ig spre IgE (IL-4), induc proliferarea eozinofilelor (IL-5) şi a mastocitelor (IL-3,4).

Între cele două subgrupe (Th1 şi Th2) există interrelaţii stimulatoare şi inhibitoare. IFN-γ (secretat de Th1) deprimă maturarea Th2 cu consecinţe funcţionale, iar Th2 (prin IL-10) suprimă producţia de Th1 acţionând ca un fel de celulă supresoare.

Limfocite T inducer sunt CD4+. Ele recunosc antigenul care este asociat moleculelor MHC din clasa a II-a. Dacă limfocitele Th acţionează în principal pe celulele B în vederea producerii de anticorpi, limfocitele T inducer stimulează în principal activitatea altor limfocite T (helper, suppresor, cytotoxic) şi a macrofagelor.

Limfocitele T suppresor (Ts) sunt CD8+. Formarea lor din precursori este urmarea contactului cu antigenul, dar fără implicarea MHC. Acţiunea lor supresoare se efectuează prin acţiune directă asupra celulelor implicate în răspunsul imun sau prin intermediul unor factori supresori. Prin stimularea Ts de către antigenele proprii (self) este prevenit procesul de autoimunitate.

Limfocitele efectoare ale hipersensibilităţii tardive (Tdth sau TD) au pe suprafaţa lor markerii CD4 şi sunt angajate în reacţia de hipersensibilitate tardivă.

Limfocitele T cu memorie (Tm) sunt formate în timpul răspunsului imun primar şi sunt limfocite CD4+. Ele sunt supuse fenomenului de restricţie imună cu participarea MCH clasa a II-a. Deşi au o viaţă lungă, de peste 40 ani, perioada lor de activitate pare a fi de numai 10-15 ani.

În natură există mai multe substanţe care se fixează pe limfocite inducându-le acestora proliferare şi diferenţiere. Ele poartă numele de *mitogene* sau *activatori policlonali* pentru că stimulează întreaga clasa de limfocite fără a face deosebire de specificitatea fiecărei clone. Două glicoproteine vegetale, concanavalina A (Con A) şi phytohemagglutinina (PHA) sunt mitogene pentru limfocitele T, iar lipopolysaccharidele (LPS) izolate din peretele celular al bacteriilor gram-negative activează policlonal limfocitele B. Pokeweed mitogen este activator pentru ambele tipuri de limfocite T şi B. În cazul limfocitelor T, activarea policlonală nespecifică este mediată de CD2 printr-un alt epitop decât cel pentru formarea rozetelor cu hematii de oaie.

Cele două tipuri de limfocite descrise (B şi T) au o morfologie identică la microscopia optică, unde apar ca celule ovoide cu diametre de 8 - 12 µm. Ele au un nucleu care ocupă aproape întreaga celulă lăsând o margine mică de citoplasmă care conţine câteva vacuole şi granule.

Organe limfatice secundare. În organele limfatice periferice sau secundare poposesc limfocitele T şi B. Ele ocupă zone specifice. Alături de limfocite, în aceste structuri limfatice periferice se mai găsesc macrofage şi celule dendritice,

Scanned with OKEN Scanner

celule care deşi nu sunt de origine limfatică contribuie substanţial la elaborarea răspunsului imun şi la păstrarea amintirii calităţii antigenului.

Ganglionul limfatic are un aspect reniform. Prin hilul său pătrund vase limfatice şi sanguine. Ganglionul limfatic este înconjurat de o capsulă care trimite septuri incomplete spre interior. Subcapsular se găseşte un sinus ce primeşte vase limfatice aferente. Elementele celulare limfatice sunt aşezate în ochiurile libere ale reţelei formate din septuri, vase sanguine, celule reticulare cu fibrele lor. Histologic se deosebesc trei zone (fig.1.7):

- *Cortexul* este format din limfocite B acumulate în aşa-numiţii foliculi primari care în cazul stimulării antigenice se măresc şi poartă numele de *centri germinativi*, pentru că ei conţin numeroase celule în stare de diviziune. Foliculii limfatici constituie aşa-zisa zonă timoindependentă;
- *Paracortexul* sau zona timodependentă ocupă o porţiune mare din ganglion şi conţine predominant limfocite T. In această zonă mitozele se întâlnesc rar. Uneori aici se găsesc şi macrofage;
- *Medulara* este bogată în vase sanguine, sinusuri limfatice şi coloane celulare formate din limfocite T şi B, plasmocite şi macrofage.

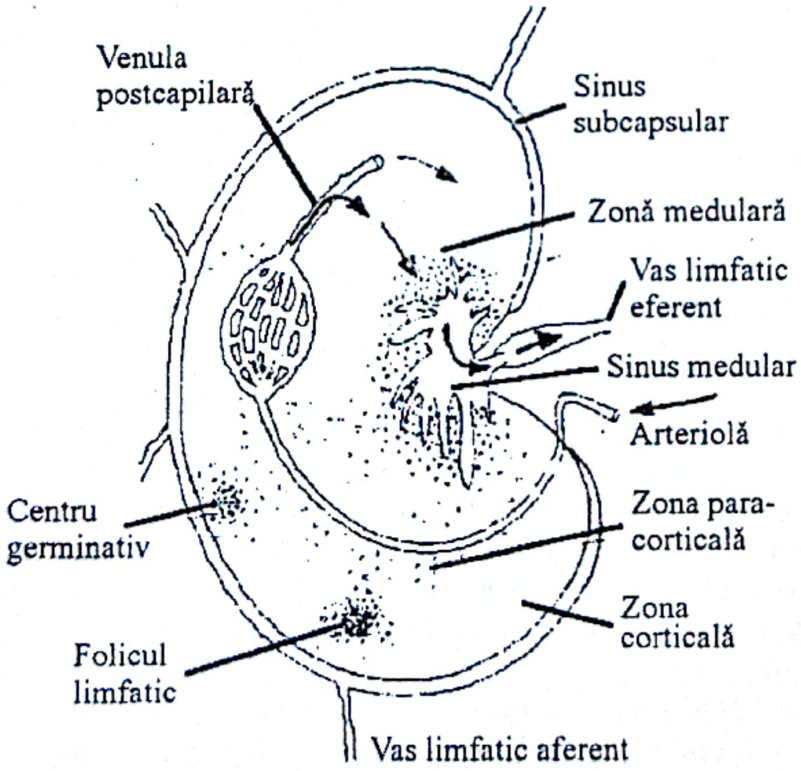

Fig.1-7. Structura ganglionului limfatic

În ganglion se deosebesc două arcade vasculare: una subcapsulară şi alta la joncţiunea regiunilor medulară şi paracorticală. O atenţie specială este acordată segmentului vascular denumit *venulă postcapilară* ale cărei celule endoteliale sunt

cilindrice şi puternic bazofile, spre deosebire de restul celulelor endoteliale venoase care sunt plate. Această zonă cu celule cilindrice este locul de trecere al limfocitelor din circulaţia sanguină în ganglion.

În ganglionul limfatic stimulat antigenic are loc o creştere a fluxului sanguin de aproximativ 4 ori, prin mărirea venulelor postcapilare şi prin deschiderea de şunturi arteriovenoase. Simultan se modifică şi traficul celular.

Splina este cel mai mare organ limfatic. Ea reacţionează prompt la antigenele circulante, mai ales dacă acestea sunt corpusculare. Splina reprezintă un filtru în sistemul circulator, aşa cum ganglionul reprezintă un filtru pentru limfă. Splina nu are vase limfatice aferente sau eferente, comunicarea făcându-se astfel cu sistemul circulator. Din capsula formată din ţesut conjunctiv dens se desprind septuri ce compartimentează organul. Trabeculele conjunctive care pătrund în interiorul splinei poartă artere şi vene. Din arterele trabeculare se desprind arterele centrale care sunt înfăşurate de teci de ţesut limfatic ocupate în special de limfocite T (zone timodependente). Aceste structuri sunt înconjurate din loc în loc de aglomerări limfatice alcătuind foliculi constituiţi în special de limfocite B (arie timoindependentă). La periferia foliculului limfatic se găseşte zona sinusurilor marginale încărcate în celule dendritice şi macrofage cu o puternică activitate de fagocitoză. Aici se opresc majoritatea antigenelor sosite pe cale arterială (fig.1.8).

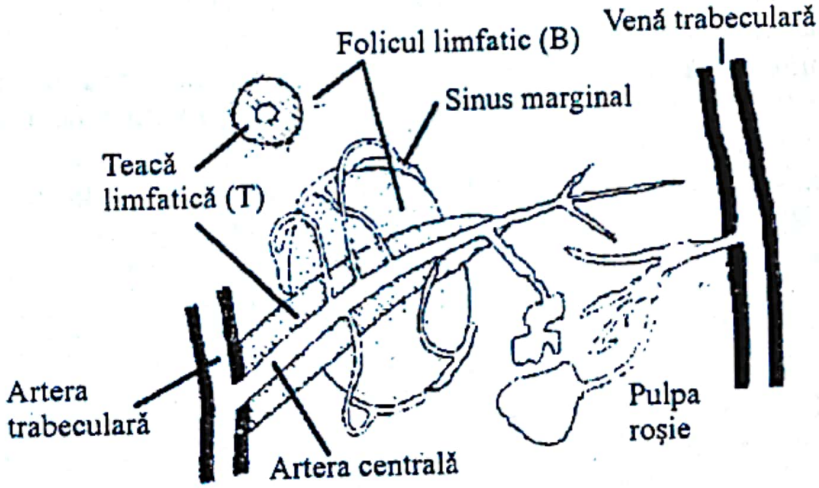

Fig.1-8. Structura schematică a splinei

Limfocitele circulante migrează din sinusurile marginale orientându-se spre locul de rezidenţă, ariile timodependente sau timoindependente. Limfocitele T trec astfel pe lângă celule ce posedă şi prezintă antigenul. Limfocitele care îl vor recunoaşte vor iniţia un răspuns imun. De exemplu: limfocitele B care au recunoscut un antigen migrează spre centrul germinativ al foliculului din pulpa albă. Aici ele dau naştere la plasmocite care migrează în pulpa roşie vecină, unde se stabilesc şi eliberează anticorpi în sinusurile sanguine alăturate.

Ţesutul limfatic asociat tubului digestiv. In jurul faringelui se găseşte inelul limfatic al lui Waldayer compus din amigdalele palatine, faringiene şi linguale. La nivelul intestinului subţire, mai ales în ileon se găsesc plăcile Peyer ce

Scanned with OKEN Scanner

sunt în fapt centri germinativi ce conțin limfocite T și B. Aceste structuri limfatice submucoase drenează în ganglionii mezenterici. Epiteliul intestinal care le acoperă este mai turtit și nu are celule secretorii în cupă și nici microvili, probabil pentru a ușura transportul antigenelor spre țesutul limfatic. Prin secreția importantă de IgA, ele contribuie la apărarea antiinfecțioasă.

CIRCULAȚIA LIMFOCITELOR

Limfocitele sunt într-o permanentă mișcare între sânge și canalele limfatice. Urmărind circulația lor de la vărsarea canalului toracic în vena subclavie stângă, reținem trecerea prin cordul drept și pulmon. După depășirea ulterioară a cordului stâng, limfocitele ajung în circulația arterială. O parte dintre limfocite nu părăsesc patul vascular și se reîntorc în circulația venoasă. O altă parte (10% dintre limfocitele circulante) trec în țesuturile periferice nelimfatice, de unde prin capilarele limfatice ajung în vasele aferente ganglionare. Ele părăsesc apoi ganglionul limfatic ajungând în cele din urmă în canalul toracic.

Limfocitele care se găsesc în vasele arteriale care irigă ganglionul îl părăsesc pe acesta prin teritoriul circulant denumit *venulă postcapilară*, segment vascular situat la joncțiunea zonelor ganglionare corticală și paracorticală. Spre deosebire de restul teritoriului venos care are celule endoteliale plate, această zonă specializată în pasajul limfocitelor are celule endoteliale înalte. Ele dezvoltă aderență numai față de limfocite, având un comportament neutru față de celelalte celule circulante. Această afinitate este dictată de perechile de markeri care se găsesc pe celula endotelială și respectiv pe limfocit (molecule de adeziune). După aderare, limfocitele trec apoi printre celulele endoteliale, părăsind astfel sistemul circulator. În țesutul limfatic ganglionar limfocitele B și T se distribuie rapid în ariile specifice de rezidență, zonele timoindependentă și respectiv timodependentă. De aici se scurg în sinusurile medulare și apoi prin ducturile limfatice eferente în canalul toracic. Durata unui circuit complet este de 24-48 ore. Într-o oră, printr-un gram de țesut limfatic trec în jur de 3×10^7 limfocite. Nu toate limfocitele recirculă. Unele se opresc definitiv în ganglion (limfocite B inocente imunologic), altele numai temporar. Contigentul de limfocite recirculante este format în special din limfocite T cu viață lungă. Limfocitele T voiajează mai rapid ca cele B.

În plăcile Peyer circulația limfocitară se face la fel ca în ganglion. Participarea celorlalte structuri limfatice (amigdale palatine, apendice) la recirculația limfocitară este de foarte mică importanță.

În splină, limfocitele T și B părăsesc circulația arterială prin sinusurile marginale și apoi migrează în ariile T și B dependente din pulpa albă. După părăsirea pulpei albe, trecând prin pulpa roșie ajung în circulația venoasă. Deci, în splină, limfocitele ies și intră direct în circulația sanguină.

Din recirculația limfocitară sunt excluse timusul și măduva osoasă care nu au decât vase eferente prin care limfocitele nou formate sunt vărsate direct în circulația venoasă.

Scopul acestei recirculări limfocitare prin țesuturi nelimfatice și limfatice este de a asigura cu un număr mic de celule o supraveghere imună completă și continuă a organismului.

Scanned with OKEN Scanner

Stimularea antigenică perturbă fluența recirculației limfocitare. Fenomenul este bifazic. Într-o primă etapă numărul celulelor din vasele eferente scade, deoarece foarte multe limfocite sunt reținute în ganglion. Sunt sechestrate mai ales cele care sunt capabile să reacționeze cu antigenul. După un timp, numărul celulelor care părăsesc ganglionul este de 2-3 ori mai mare față de faza inițială. Sunt deversate celule blastice formatoare de anticorpi sau celule T efectoare.

MOLECULE PARTICIPANTE LA PROCESUL IMUN

Interrelația între cele trei tipuri de celule menționate (celule prezentatoare de antigen, limfocite T și limfocite B) reprezintă cheia funcțională a aparatului imun.

Această unitate funcțională este rezultatul unei comunicări intercelulare permanente care se face prin:

– contact direct necesar transmiterii informației de la o celulă la alta; alipirea a două celule se face datorită afinității specifice a unor structuri care se recunosc (MHC+antigen și TCR) și datorită contribuției unor molecule de suprafață, mai ales de natură proteică, cu acțiune nespecifică (molecule de adeziune);

– intermediari biochimici, generic numiți *citokine*.

MOLECULE DE ADEZIUNE

Acestea sunt un grup mare de proteine cu rol în multe procese biologice ca morfogeneză, imunitate, inflamație, hemostază, localizarea metastazelor neoplazice. Ele se găsesc pe suprafața tuturor celulelor și reprezintă suportul material al relațiilor celulă-celulă și celulă-matrix extracelular. Cele de pe suprafața leucocitelor și a celulelor endoteliale, în special ale venulelor postcapilare, participă intens la procesul inflamator. Calitatea și cantitatea moleculelor de adeziune exteriorizate pe suprafețele celulelor sunt determinate mai ales de influențele citokinelor. Felul infiltratului inflamator (neutrofile, eozinofile, limfocite) este urmarea tipului de molecule de adeziune afișate. Moleculele de adeziune de pe unele celule au perechi moleculare corespunzatoare pe alte celule (molecule de adeziune și liganzi). Ele se împart din punct de vedere structural în 6 familii (fig.1-9):

Caderine sunt substanțe dependente de prezența Ca. Joacă rol în aderența intercelulară, în dezvoltare somatică normală. Ele sunt responsabile de unele anomalii congenitale și câștigate; sunt implicate în tumorogeneză și metastazare. Anomaliile structurale sau de comportament explică unele boli dermatologice ca boala Darier, boli buloase, avortul spontan;

Superfamilia Ig (CD54) este compusă din molecule care se aseamănă cu moleculele de Ig. Funcția principală este de recunoaștere celulară, proces care este

Scanned with OKEN Scanner

homofilic (celule de același fel) și heterofilic (celule diferite). Din această categorie de molecule de adeziune fac parte ICAM-1 (InterCellular Adhesion Molecule) și VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule);

Integrinele sunt glicoproteine de suprafață care mediază interacțiunile celulei cu alte celule și cu matrixul extracelular, jucând rol de receptori pentru matrix. Sunt formate din două lanțuri α si β care există în multiple variante alelice. Prin unirea lor se formează multiple integrine cu variate funcții individuale. Între multiplele grupe două sunt de interes mare:

Subfamilia β1 denumită și VLA (Very Late Activation antigens). Ele sunt implicate în extravazarea leucocitară, citotoxicitatea mediată celular, în chemotaxie și fagocitoză, de exemplu CD49d/CD29 mediază adeziunea intercelulară B-T și T-celulă endotelială. CD49 recunoaște fibronectinul și VCAM de pe celulele endoteliale;

Subfamilia β2 din care reținem CD11/CD18 (LFA 1 = Leucocyte Function Antigen). Varietatea CD11a/CD18 este pe toate leucocitele și trombocitele. Perechea sa moleculară de pe alte celule este ICAM-1 (CD54). Varietatea CD11b/CD18 este receptor pentru fracții de C (C3b, C4b). Este pe Mo/Ma și pe neutrofile;

Selectinele (CD62P) sunt molecule asemănătoare lectinelor. Ele au rol esențial în aderența celulară la endoteliul vascular, în inflamație și metastazare. Se descriu mai multe subclase de selectine:

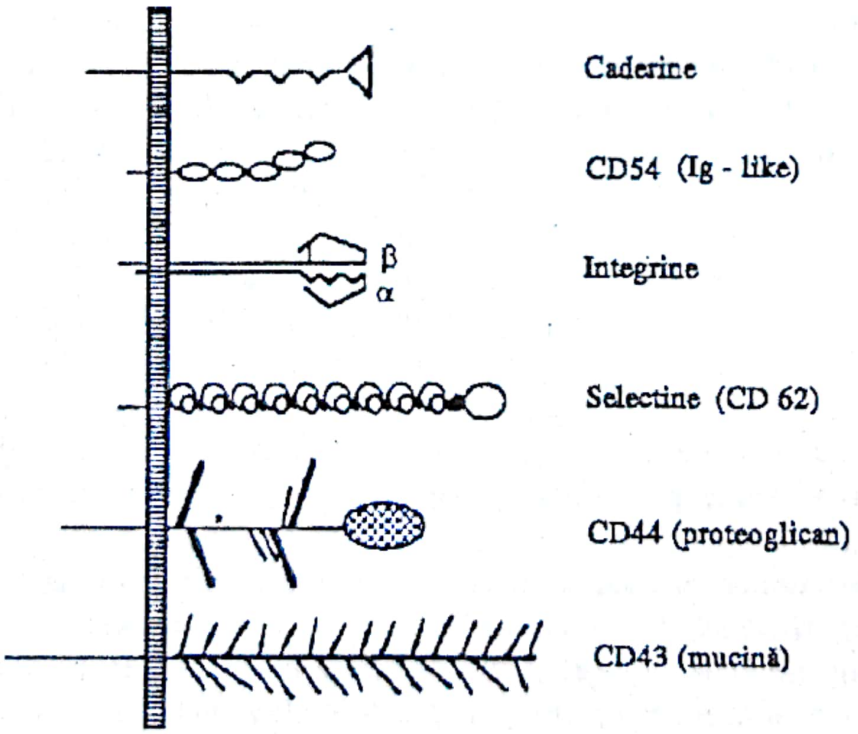

Fig.1-9. Structura schematică a moleculelor de adeziune

Scanned with OKEN Scanner

Subclasa E se găseşte pe celula endotelială. Ea este activată de IL-1β şi de TNF-α. Fixează glicoproteinele din structura membranară a PMN, Mo, limfocitelor T CD4+ cu memorie;

Subclasa L este pe toate leucocitele şi este solubilă în serul normal. Intervine în aderenţa leucocitelor la endoteliu, mai ales a limfocitelor cu memorie la venula postcapilară;

Subclasa P se găseşte pe plachete şi în celula endotelială (corpusculii Weibel Palade) de unde este afişată. Ea interacţionează cu receptori de pe PMN şi Ma;

Moleculele familiei CD44 (proteoglicani) sunt pe celulele endoteliului vascular ale venulei postcapilare. Sunt implicate în migrarea leucocitelor în ganglion şi în metastazarea adenocarcinoamelor;

Mucina de pe suprafaţa celulară.

Defectele în sinteza şi exprimarea acestor molecule de adeziune sunt la originea unor boli dermatologice buloase, iar unele soluţii terapeutice antiinflamatoare biologice (cu anticorpi monoclonali) le au drept ţintă.

CITOKINE

Aceste substanţe sunt molecule secretate de multiple celule ce includ toate celulele sistemului fagocitar mononuclear, limfocitele, celulele endoteliale, celulele epiteliale, fibroblaştii şi condrocitele. Ele servesc conexiunilor funcţionale multidirecţionale dintre celulele producătoare şi celulele receptoare; citokinele îşi controlează producţia şi activitatea prin competiţie, sinergism, circuite reglatorii cu mecanism de feed-back pozitiv sau negativ. Celulele ţintă au receptori specifici faţă de toate acele citokine care le influenţează activitatea. În prezent, atât citokinele cât şi receptorii lor au căpătat o foarte mare importanţă datorită faptului că pot reprezenta ţinte terapeutice în bolile autoimune.

Modalitatea de acţiune a citokinelor este variată. Ea poate fi paracrină (influenţe asupra celulelor vecine), endocrină (asupra celulelor la distanţă), autocrină (asupra celulei generatoare). Această ultimă modalitate se realizează prin fixarea citokinelor pe receptorii aceleiaşi celule producătoare sau prin sinteza unor substanţe care nu părăsesc celula şi se fixează pe structuri interne (efect intracrin).

Stimulii recepţionaţi de celule prin intermediul citokinelor sau prin contact direct sunt transmişi în interiorul celulei unde induc modificări biochimice cu efecte pe:

– activitatea enzimelor membranare şi/sau citosolice;

– dinamica citoscheletului modificând gradul de polimerizare a actinei; prin aceasta, moleculele de suprafaţă devin mobile, de exemplu în procesul imun are loc aglomerarea receptorilor pentru antigen la un pol celular ("capping");

– nucleu, unde diversele gene sunt inhibate sau activate în exprimarea lor cu urmări pe sintezele de proteine proprii.

Numărul moleculelor proteice de pe exteriorul celulei este supus astfel permanent influenţelor unor factori externi (citokine, hormoni, medicamente).

Scanned with OKEN Scanner

Citokinele, substanţe de natură proteică, au o greutate moleculară mică (sub 60 000 D). Ele se pot clasifica după structură sau origine (de exemplu: limfokine elaborate de limfocite, monokine, elaborate de macrofage etc). Cea mai utilizată clasificare este însă după funcţie. Din acest punct de vedere cele mai importante citokine de proveniență macrofagică se clasifică în 4 grupe funcţionale principale:

– *IL-1, TNF-α, IL-6, IL-12.* Ele stimulează sinteza hepatică a elementelor fazei acute a inflamaţiei, induc exprimarea moleculelor de adeziune (ICAM-1) de către celulele endoteliale, induc neutrofilie, produc febră, stimulează răspunsul unor limfocite T şi/sau B. Ele sunt implicate profund în medierea imunităţii naturale;

– *IL-8, MIPs 1 şi 2* (Macrophage Inflamatory Proteins), elemente care sunt produse rapid după fagocitoza microorganismelor, induc chemotactismul PMN şi al macrofagelor la locul inflamaţiei;

– *IL-10, TGF-β* (Transforming Growth Factor), antagonistul receptorului IL-1, substanţe care se opun procesului inflamator împiedicând eliberarea citokinelor de către macrofage;

– *citokine eliberate în inflamaţia cronică* cum sunt factorii de creştere (asemănători celor produşi de trombocite şi fibroblaşti) care induc angiogeneză şi reorganizarea ţesutului conjunctiv.

Există şi alte clasificări după alte criterii, cum este cel care le împarte în familii: interleukine, interferoni, factori de creştere, factori de stimulare a dezvoltării coloniilor.

Citokinele intervin în multe procese biologice ca mediatori locali ai comunicării intercelulare în condiţii normale sau de boală. Ele intervin în inflamaţia acută şi cronică favorizând mai multe procese ca:

– exprimarea moleculelor de suprafaţă;
– recrutarea şi migrarea celulară;
– proliferarea diferenţiată şi maturarea celulelor imune şi inflamatorii;
– inducerea sintezei reactanţilor fazei acute a inflamaţiei;
– inducerea angiogenezei;
– inducerea distrucţiilor celulare;
– stimularea fibrozei tisulare.

Efectele citokinelor pe funcţiile celulelor sunt sinergice sau antagonice, de exemplu:

Efect stimulator	*Răspunsul celular*	*Efect inhibitor*
IL-1	Producerea de către celulele T a IL-2	TGF-β
TGF-β	Sinteza fibroblastică a colagenului	IFN-γ, TNF-α
IL-1,TNF-α	Sinteza macrofagică de proteaze	IL-4, IFN-γ
IFN-γ	Expresia antigenelor MHC clasa a II-a	IFN-α, IFN-β
IL-1, TNF-α	Producţia macrofagică de IL-1, 6, 8	IL-4, IL-10
IL-4	Producţia plasmocitară de IgE	IFN-γ

Scanned with OKEN Scanner

Sinteza citokinelor este supusă unui foarte fin mecanism de reglare în care producţia poate fi stimulată sau inhibată prin diverşi factori de origini foarte variate: alte citokine, molecule de Ig (agregate sau nu), produse bacteriene, reactanţii fazei acute a inflamaţiei, hormoni, medicamente, apariţia de anticorpi naturali ai citokinelor (cei cu mare afinitate sunt blocanţi, cei cu afinitate redusă sunt stimulanţi), existenţa receptorilor solubili (clivaj proteolitic al porţiunii extramembranare a receptorului), antagonişti ai receptorilor.

Una dintre cele mai cunoscute, mai bogată în acţiuni şi mai bine cercetată citokină este IL-1 (fig.1.10).

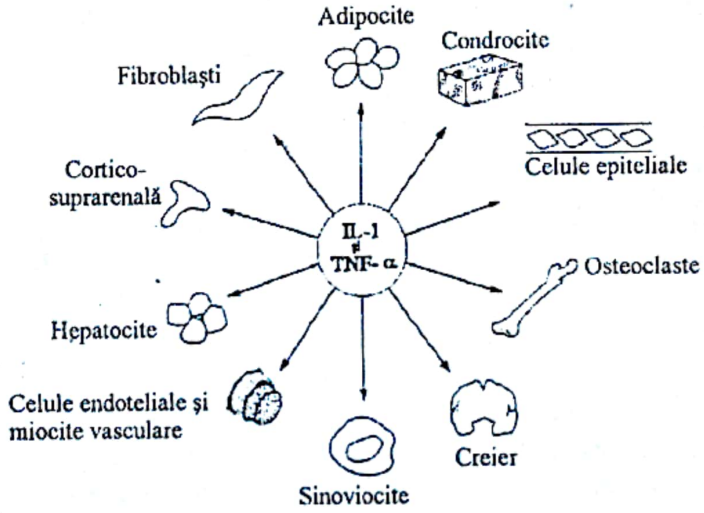

Fig.1.10. Acţiunile IL-1 şi ale TNF-α

ARC IMUN AFERENT
- FUNCŢIONALITATE -

Pătrunderea unui antigen în organism este urmată de dezvoltarea fie a unui răspuns imun, fie a unei stări de toleranţă imună. Răspunsul imun se desfăşoară după un model general unic. Aparatul imun cu care ia contact antigenul este constituit dintr-o multitudine de celule imun/antigen reactive ("virgine") apreciate de a fi în număr de aproximativ 10^{12}. Ele nu au avut nici o experienţă imună anterioară.

În prezent este admis faptul că fiecărui tip de determinant antigenic îi corespunde o singură celulă de recunoaştere. Ea este unipotentă şi este insensibilă la contactul cu alte specificităţi antigenice, deoarece are receptori pentru un singur fel de determinant antigenic.

Scanned with OKEN Scanner

În răspunsul imun, contactul dintre antigen şi celula care-l recunoaşte este urmat de un proces de multiplicare şi diferenţiere a acesteia, în urma căruia se formează un număr mare de celule efectoare, care acţionează direct sau prin produsele pe care le secretă. Obligaţia acestora este de a anihila antigenul. Efectele acestui prim contact este considerat răspuns imun primar.

În timpul desfăşurării procesului de diferenţiere se desprinde un grup de celule care nu vor avea aceeaşi evoluţie. Ele nu vor continua procesul de multiplicare, diferenţiere şi maturare spre celule efectoare, ci vor rămâne într-o etapă timpurie de evoluţie. Destinul lor este de a păstra amintirea antigenului chiar după totala sa eliminare. De aceea ele poartă numele de *celule cu memorie*.

Un nou contact cu acelaşi antigen după un interval de timp găseşte organismul mai bine pregătit. Celulele cu memorie îl recunosc uşor şi reacţionează prompt. Răspunsul acestora este rapid, intens şi eficace. În acest caz este vorba de răspuns imun secundar.

În funcţie de calitatea antigenului, de calea sa de pătrundere, de forma sa de prezentare şi de felul liniei celulare angajate se deosebesc două feluri de răspuns imun: răspuns imun mediat humoral (prin anticorpi) şi răspuns imun mediat celular.

RĂSPUNSUL IMUN HUMORAL

Prin stimularea antigenică a liniei limfocitare B se realizează secreţie de imunoglobuline. Acestea sunt anticorpi specifici şi au o structură complementară faţă de determinantul antigenic care le-a indus sinteza.

ACTIVAREA LIMFOCITELOR B

Activarea prin antigene timodependente. Majoritatea anti-genelor naturale, în special proteinele, sunt antigene timodependente. Determinanţii lor antigenici nu sunt identici şi repetitivi ci au configuraţii variate. Proteinele se comportă deci ca o multitudine de antigene monovalente. Fiecare determinant antigenic izolat şi prelucrat de către celula prezentatoare de antigen este angajat în activarea unui limfocit B. Acest stimul produs de unirea antigenului cu receptorul celular este însă prea slab pentru a induce proliferarea şi diferenţierea clonei respective. Este nevoie de stimuli suplimentari şi aceştia vin din partea limfocitelor T, mai exact Th. Antigenele care angajează în sinteza anticorpilor şi linia limfocitară T sunt numite *timodependente*.

Cooperarea celulară în timpul răspunsului imun. În răspunsul imun mediat humoral se recunoaşte o intensă cooperare celulară între celulele prezentatoare de antigen (de exemplu: macrofagul) şi celulele producătoare de Ig (limfocitele B). În cazul antigenelor timodependente intervine ca un element intermediar limfocitul T care "ajută" la sinteza de Ig. De aceea el a fost numit *limfocit T helper* (Th). Interrelaţiile dintre aceste trei celule (macrofag, limfocit Th, limfocit B) sunt complexe.

Scanned with OKEN Scanner

Prelucrarea și prezentarea antigenului. După administrarea unui antigen, macrofagele din ganglionul de drenaj sau din splină îl captează și îl concentrează. Penetrarea in interiorul celulei se face prin endocitoză (antigen particulat) sau prin pinocitoză (antigen solubil). După unirea fagozomilor (vezicule care conțin antigenul) cu veziculele lizozomale bogat încărcate de enzime litice, antigenul este supus unei degradări în aceste vacuole nou create și denumite *fagolizozomi.* Deși în fagolizozomi, antigenul ar putea fi digerat până la stadiul de aminoacizi, degradarea lui se oprește la stadiul de polipeptid cu 20-30 de aminoacizi. Factorii care determină această degradare incompletă, controlată, prin care se protejează aceste peptide imunocompetente care conțin determinanții antigenici ai moleculelor originare sunt nestiuți. În interiorul celulei prezentatoare de antigen, peptidele se cuplează cu antigele de histocompatibilitate (MCH) printr-o legătura foarte fermă. Această coeziune strânsă este datorată în mare parte existenței unui "șanț" în interiorul moleculei MHC, structură care permite o adaptare perfectă a peptidului.

În cazul *antigenelor exogene* (care provin din afara celulei), peptidele generate formează complexe moleculare cu MHC clasa a II-a care vor fi apoi transportate și expuse pe suprafața exterioară a macrofagului pentru a putea fi recunoscute de celulele T specifice.

În cazul *antigenelor endogene* (produse în interiorul celulei, de exemplu peptidele provenite din antigene proteice sintetizate de celule infectate viral sau antigene tumorale) asocierea se face cu MHC clasa I.

Alipirea macrofagelor la limfocitele Th. Complexul peptid antigenic-antigen MHC clasa a II-a este recunoscut de receptorul specific pentru antigen de pe limfocitul Th. Reamintim că receptorul pentru antigen al limfocitului T (TCR = T Cell Receptor) este compus din două fragmente denumite Ti și CD3. Conexiunea dintre acest receptor și complexul molecular (peptid antigenic-MHC clasa a II-a) prezentat de macrofag este cu afinitate slabă. Atracția este major amplificată de reacția între molecula CD4 (de pe suprafața limfocitului) și porțiunea constantă a moleculei MHC clasa a II-a (de pe suprafața macrofagului). La conexiunea fermă a limfocitului Th cu macrofagul mai contribuie și cupluri de molecule de adeziune: CD2 și LF1, de o parte (Th), și ICAM-1 și LF3, de cealaltă parte (macrofag). Exprimarea acestora este amplificată de o serie de mediatori elaborați chiar în timpul procesului. Studii in vitro au arătat că în timpul producerii de anticorpi în jurul macrofagului sau celulelor dendritice se formează buchete de limfocite B și T cu care aceste celule sunt în contact intim.

Activarea limfocitelor Th. Limfocitul Th, în afara stimulului direct primit de la macrofag prin contactul intim intercelular, mai primește de la aceeași celulă și un al doilea semnal printr-o moleculă mică (15 000 daltoni), IL-1, care completează procesul de activare.

Drept urmare, în limfocitul Th se produc câteva modificări. Primele elemente sesizate (în secunde) sunt constituite din fosforilări de proteine intracelulare ce succed unor fragmentări de fosfolipide membranare. Celula începe să sintetizeze mRNA în special pentru limfokine și pentru receptorii lor, molecule care sunt secretate și respectiv exprimate pe suprafața celulei.

După 48 ore începe sinteza DNA cu diviziuni celulare consecutive.

Scanned with OKEN Scanner

Limfocitele Th activate sintetizează o cantitate importantă de limfokine. Sunt elaborate diverse tipuri de interleukine care pot fi grupate după celulele lor ţintă. Astfel un grup celular marcat Th1 secretă mai ales IFN-γ şi IL-2 şi activează limfocitele T killer, celulele NK şi macrofagele.

Grupul celular Th2 produce IL-4 şi IL-5 ce stimulează limfocitele B. Există în plus şi mediatori care aparţin ambelor grupe.

Prin secreţii diferenţiate de limfokine se produc activări specifice ale celulelor B, fenomen prin care se induc sinteze de clase variate de Ig.

Activarea celulelor B. Următoarea treaptă în răspunsul imun humoral este activarea limfocitelor B cu producere de anticorpi specifici. Procesul începe de fapt chiar în timpul activării limfocitelor Th, când are loc o fixare a antigenului specific şi pe limfocitele B, pe receptorii de pe suprafaţa acestor celule care sunt de fapt molecule de imunoglobuline. Fixarea antigenului pe limfocitul B care are receptorul imunoglobulinic specific este urmată de endocitoza complexului antigen-receptor. Fragmentele peptidice obţinute din degradarea intracelulară a antigenului sunt cuplate cu MHC clasa a II-a şi expuse pe suprafaţa limfocitului B. Compexul (peptid antigenic-MCH clasa a II-a) expus pe suprafaţa limfocitului B serveşte ca semnal de recunoaştere pentru limfocitul Th specific deja activat de macrofag. Influenţa limfocitului Th asupra limfocitului B se face prin contact direct şi prin intermediul IL-2. Limfocitele B antigen specifice pot capta antigenul din mediu la concentraţii extrem de mici, dar capacitatea lor de a-l prelucra este redusă, astfel că acest eveniment nu reprezintă un stimul suficient pentru declanşarea sintezei de anticorpi. Este nevoie de un stimul suplimentar care provine de la limfocitul Th "mobilizat" de macrofag. El este constitui de IL-2.

Relaţiile funcţionale în această tripletă celulară (macrofag, limfocit Th, limfocit B) sunt complexe. Macrofagul şi limfocitul B captează şi prelucrează antigenul. Ambele celule stimulează apoi limfocitul Th care la rândul lui activează celula B, determinându-i conversia în plasmocit, celulă producătoare de anticorpi (fig.1.11). Stimularea limfocitului Th se face prin contactul direct al acestei celule cu macrofagul şi cu limfocitul B, contact direct cosolidat prin atracţia puternică dezvoltată de moleculele MHC clasa a II-a (de pe macrofag şi limfocitul B) şi CD4 (de pe limfocitul Th). In plus limfocitul Th este supus unui "bombardament" de citokine stimulatoare: IL-1 (origine macrofagică) şi IL-6, TNF-α şi proteina costimulatoare B7 (toate de provenienţă limfocitară B).

Dinamica răspunsului imun. Replica imună humorală după o primă expunere a unui organism la un antigen timodependent poartă numele de *răspuns imun primar*, căruia i se disting mai multe faze evolutive:

– faza latentă, iniţială durează 1-2 săptămâni de la expunerea la antigen până la detectarea în ser a primelor molecule de anticorpi specifici. În acest timp se consumă toate evenimentele de relaţie funcţională între cele trei celule: macrofag, limfocit T şi limfocit B;

– faza exponenţială în care concentraţia serică de anticorpi creşte;

– faza de echilibru (steady state) în care producţia şi dispariţia anticorpilor (consum şi degradare) sunt echilibrate;

– faza de declin în care răspunsul imun se stinge şi producţia de anticorpi încetează în câteva săptămâni.

Scanned with OKEN Scanner

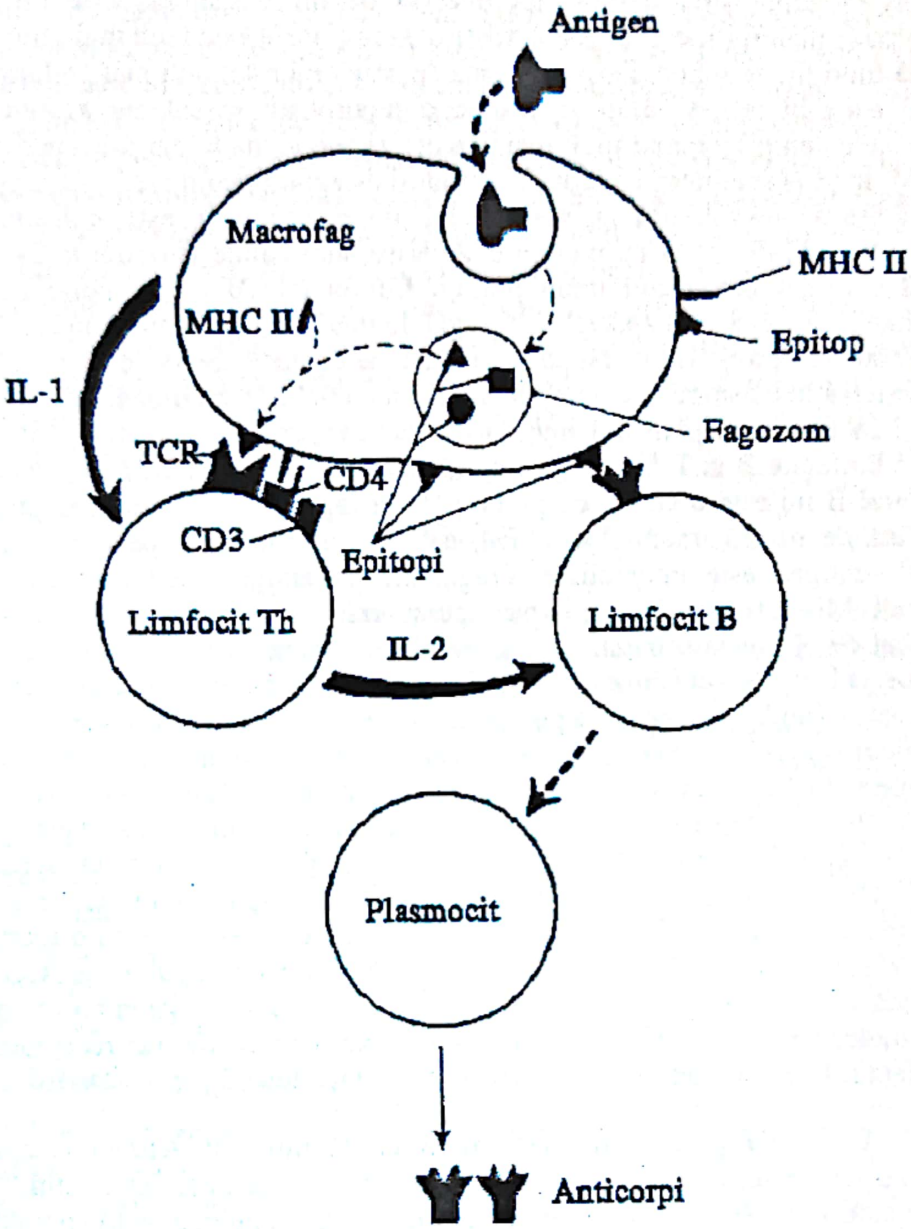

Fig.1-11. Interacțiuni celulare în răspunsul imun humoral (modificat după Hyde)

În timpul răspunsului imun primar sunt detectați inițial anticorpi din clasa IgM care uneori reprezintă unicul tip de secreție. Alteori, apar după un timp și anticorpi din clasa IgG. Apariția acestei noi clase se însoțește în general de scăderea brutală a producției de IgM.

Scanned with OKEN Scanner

Răspusul imun secundar (anamnestic) se produce atunci când același antigen se administrează după un interval de timp, timp în care nu se mai detectează anticorpi specifici. De această dată răspunsul este mult mai prompt, faza inițială fiind foarte scurtă, iar producerea de anticorpi este mult mai prelungă (luni, uneori ani). În același timp se înscrie o modificare în calitate a anticorpilor. Moleculele de tip IgG apar mult mai precoce și la cote mult mai ridicate decât cele de IgM. În plus aviditatea anticorpilor produși este mult mai mare.

Baza morfologică a răspunsului imun secundar este constituită din populația de limfocite B cu memorie. Acestea sunt celule B oprite în evoluție în timpul derulării procesului imun primar. Limfocitele B cu memorie poartă pe suprafața lor receptori în special de tip IgG de mare afinitate pentru antigen. Puține celule au receptori IgM. Noua stimulare antigenică produce proliferarea și diferențierea în plasmocite a unora dintre limfocitele B cu memorie.

În timpul răspunsului imun secundar cooperarea intercelulară implică în special limfocite B și T fără angajarea altor celule accesorii. Deși în mod natural, limfocitul B nu este o celulă cu proprietăți de fagocitoză, datorită receptorilor de suprafață de natură imunoglobulinică, ea fixează antigenul specific. Complexul receptor-antigen este internalizat. Fragmente de antigen sunt apoi asociate cu molecule MHC clasa a II-a și expuse pe suprafața celulei. În plus este elaborată IL-1, cel de al doilea semnal. Aceste evenimente care au loc în limfocitul B sunt similare celor petrecute în macrofag. Ele au drept scop activarea limfocitului Th care odată stimulat influențează pozitiv activitatea celulei B care-și crește producția de anticorpi specifici. Sunt argumente care susțin că unele dintre limfocitele Th care intervin în timpul răspunsului imun secundar sunt și ele celule cu memorie.

Deși sărace în argumente experimentale, mecanismele răspunsurilor imune secundare cu producere de IgA și IgE se consideră a se realiza în mod asemănător.

După cum s-a menționat, în timpul instalării răspunsului imun secundar are loc o mutație în clasa și calitatea Ig secretate. Comutarea necesită o rearanjare a genelor structurale ale moleculelor de Ig. Schimbarea tipului de secreție nu modifică însă specificitatea față de antigen. Chiar dacă se schimbă clasa de Ig, noile molecule păstrează aceeași structură a părții variabile, iar receptorii de pe suprafața celulei își mențin aceeași specificitate față de antigen.

Activarea prin antigene timoindependente. În această categorie de antigene se înscriu polizaharidele bacteriene, flagellina, dextranul, ficolul, polipeptide formate din aminoacizi levogiri. Aceste antigene uneori sunt înglobate prin endocitoză în celulele parenchimatoase ale unor organe (ficat în special) unde persistă pentru perioade lungi și de unde se eliberează continuu în cantități mici, determinând un răspuns imun prelungit. Aceste substanțe având determinanții antigenici dispuși repetitiv și linear se fixează rapid și ferm pe receptorii celulari. Fixarea acestor antigene pe limfocitele B este urmată de rearanjarea receptorilor specifici. Fenomenul este posibil datorită ușurinței de mobilizare a proteinelor membranei celulare ("proteine navigante pe o mare de lipide"). Receptorii pentru antigen se aglomerează în insule (*patching*), pentru ca apoi să se concentreze la un pol al celulei (*capping*). Semnalul constituit din unirea antigenului cu receptorul are repercusiuni asupra nivelului mesagerilor intracelulari de ordin II (cAMP și cGMP) și asupra comportamentului celular. Se remarcă modificări nucleare (eucromatizare

Scanned with OKEN Scanner

şi mărire nucleolară) şi citoplasmatice (creşterea ei şi dezvoltarea organitelor celulare) ce preced cu ore proliferearea şi diferenţierea limfocitelor B în plasmocite secretante de anticorpi specifici. Sunt argumente experimentale care susţin existenţa unor subseturi de limfocite B specializate care vor fi angajate în răspunsul imun la polizaharide, subseturi celulare care ontogenic apar mai târziu.

Alte caracteristici ale acestui tip de proces imun sunt: absenţa selectării celulelor cu memorie, absenţa răspunsului imun secundar şi secreţie exclusivă de IgM. Secreţia maximală de IgM durează luni de zile. La 5 ani se poate păstra un nivel de 50% din cea mai mare valoare, putându-se detecta anticorpi şi la 8 ani de la stimularea antigenică. Acest efect prelungit se explică şi prin faptul că odată format complexul antigen-anticorp este fagocitat şi digerat. Celulele fagocitare nu pot digera decât anticorpul eliberând antigenul odată cu moartea celulei. Antigenul se va reinsera într-un nou ciclu imun. În timpul răspunsului imun prin antigene timoindependente nu sunt angajate limfocite Th, de unde şi numele de antigene timoindependente.

IMUNOGLOBULINE

Imunoglobulinele (Ig) sunt secretate de plasmocite, care de fapt sunt limfocite B stimulate antigenic. Ig sunt deversate în ser şi în alte lichide biologice. Ele reprezintă elementul terminal al arcului imun aferent al liniei limfocitare B.

Ig sunt proteine care poartă în structura lor proprietatea de anticorp, adică aceea de a reacţiona în mod specific cu antigenul care le-a determinat sinteza. Ele reprezintă aproximativ 20% din proteinele plasmatice şi migrează în mare parte în zona electroforetică γ şi mai puţin în zona β. Se mai găsesc în cantităţi variabile în lichidele extravasculare şi în secreţiile exocrine. Populaţia serică de molecule de Ig este foarte heterogenă. Larga lor varietate moleculară le-a îngreunat mult studierea. Analiza structurală şi chimică a rezultat din studierea unor materiale foarte omogene care au putut fi separate din serul bolnavilor cu plasmocitom sau din serul animalelor cărora li s-a indus experimental această boală.

Structură generală

Date generale şi structurale. Ig sunt glicoproteine la care proporţia glucidică este de 4-10 %, restul fiind de natură polipeptidică. Fiecare moleculă este formată din cel puţin o unitate monomerică de bază care conţine 4 lanţuri polipeptidice, a căror coeziune este realizată prin punţi disulfidice (-S-S-). Aceste legături chimice se formează între moleculele de cisteină şi sunt dispuse între lanţuri (intercatenare) sau în interiorul aceluiaşi lanţ polipeptidic (intracatenare). Ele sunt esenţiale pentru configuraţia tridimensională a moleculei.

În structura moleculei se deosebesc două lanţuri polipeptidice scurte, uşoare, notate L (light) şi două catene lungi denumite lanţuri grele, marcate H (heavy). Aşezarea lor este simetrică. Fiecare lanţ polipeptidic are o extremitate aminoterminală denumită *porţiunea variabilă* (V) şi un capăt carboxiterminal denumit *porţiunea constantă* (C). Lanţurile polipeptidice, indiferent dacă sunt uşoare (L) sau grele (H), nu au o dispoziţie lineară ci una buclată, produs al

legăturilor disulfidice intracatenare. Regiunile globulare astfel create poartă numele de *domenii*. Lanţurile uşoare (L) au două domenii, unul în zona variabilă marcat VL, altul în zona constantă (CL), iar lanţurile grele (H) au 4 sau 5 domenii: (VH, CH1, CH2, CH3, CH4) (fig.1.12).

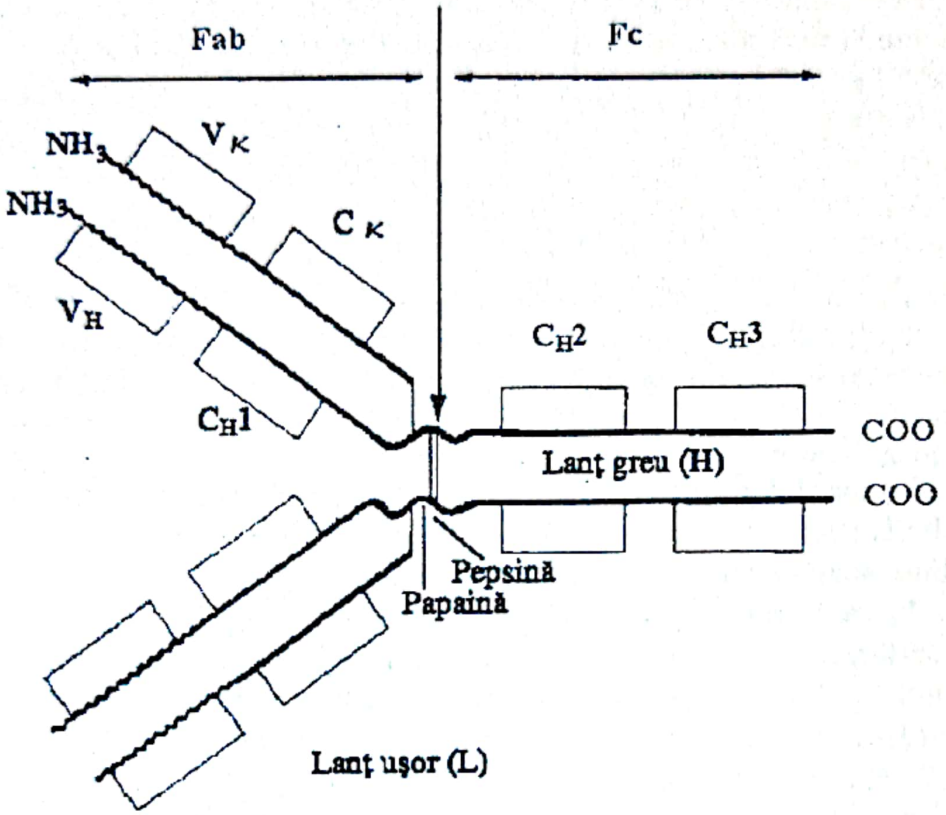

Fig.1-12. Structura generală a moleculei IgG

Porţiunea între primele două domenii ale regiunii constante (CH1 şi CH2), unde la moleculele Ig G, Ig A şi IgD se găseşte şi legătura disulfidică intercatenară, poartă numele de *zona balamalei* (hinge region) datorită flexibilităţii moleculare existente aici. Tot în această regiune, molecula de Ig prezintă o mare susceptibilitate la digestia enzimatică sau chimică.

În urma digestiei cu papaină a moleculei de IgG se obţin două fragmente Fab (Fragment antigen binding) şi unul Fc (Fragment crystallizable). Fragmentul Fab este compus din lanţul uşor L şi o parte din lanţul greu vecin H. Domeniile VH şi CH1 formează împreună fragmentul Fd. Digestia cu pepsină clivează molecula de Ig într-un fragment mare denumit F(ab)2 şi câteva peptide scurte. F(ab)2 se compune din două unităţi Fab şi din regiunea balamalei.

Lanţul uşor. Toate lanţurile uşoare au o masă moleculară de aproximativ 23 000 Daltoni. Ele se ataşează lanţului greu H printr-o legătură disulfidică intercatenară (-S-S-) fixată pe extremitatea sa carboxi. Lanţurile uşoare sunt compuse din 214 aminoacizi şi se împart datorită diferenţelor antigenice purtate de regiunea constantă (CL) în două tipuri κ şi λ. La omul normal cele două tipuri se găsesc în raportul 2/1. Lanţurile uşoare intră în compoziţia tuturor varietăţilor de

anticorpi, dar trebuie menţionat că într-o moleculă de Ig se găsesc lanţuri uşoare numai de un singur tip.

Lanţurile de tip κ, indiferent de molecula de Ig în a cărei compoziţie intră, au în jumătatea lor constantă (CL) structuri identice. Excepţie face poziţia 191. Aici se găsesc fie valină, fie leucină, aminoacizi care deosebesc alotipurile Km. În jumătatea variabilă se înscriu însă deosebiri în peste 70% dintre poziţiile aminoacizilor structurali.

Lanţurile de tip λ pot prezenta variaţii de compoziţie în porţiunea lor constantă în poziţiile 154 şi 191. Existenţa în poziţia 154 a glicinei sau serinei creează izotipurile Kern (+ sau -), iar lizina sau arginina generează în poziţia 191 izotipurile Oz (+ sau -).

Lanţul greu. Lanţul polipeptidic greu H are în jur de 440 de aminoacizi. Porţiunea sa variabilă reprezintă aproximativ un sfert din lungimea sa. Porţiunile variabile ale ambelor tipuri de lanţuri, uşor şi greu, sunt faţă în faţă şi au mărimi asemănătoare. Comportamentul antigenic diferit al porţiunii constante deosebeşte cinci tipuri de lanţuri grele: α, γ, μ, ε şi δ.

Componenta glucidică a Ig se fixează pe regiunea constantă a lanţului greu. Ea este necesară păstrării configuraţiei funcţionale a regiunii Fc.

Clase de imunoglobuline. Împărţirea Ig în clase este făcută de calitatea antigenică a lanţului greu. Se deosebesc cinci clase de Ig: IgG, IgM, IgA, IgE şi IgD.

IgG. Aceasta este clasa dominantă din punct de vedere cantitativ. În serul uman se găseşte în concentraţie medie de 1000 mg/dl, adică 75% din totalul Ig. Este singura Ig care traversează membrana placentară. O moleculă conţine două lanţuri uşoare de tip κ sau λ şi două lanţuri grele γ. Lanţurile γ se deosebesc în patru categorii antigenice: γ1, γ2, γ3 şi γ4. Astfel se diferenţiază 4 subclase de IgG: IgG1 (70%), IgG2 (16%), IgG3 (10%) şi IgG4 (4%), care se mai diferenţiază şi prin numărul şi/sau locul de inserţie al legăturilor disulfidice (-S-S-) intercatenare atât cele de tip L-H cât şi cele de tip H-H (fig.1.13). Lanţurile grele γ au trei domenii în regiunea constantă. Aceste deosebiri structurale induc diferenţe funcţionale între subclasele de Ig (de exemplu: comportamentul faţă de complement).

Indiferent de felul subclasei, lanţul greu γ conţine un marker alotipic specific, denumit Gm. În prezent sunt cunoscuţi aproximativ 25 factori alelici pentru markerii Gm.

Molecula de IgG are două situsuri combinative pentru antigen situate la extremitatea sa aminoterminală.

IgM se găseşte în ser în concentraţie de 120 mg/dl. Are un timp de înjumătăţire de 5 zile. Este cea mai mare moleculă imunoglobulinică, având o masă moleculară de aproximativ 900 000 daltoni. Molecula sa este pentamerică. Monomerul său este asemănător tiparului structural al IgG, cu deosebirea că lanţul greu are în cazul IgM un domeniu suplimentar (CH4) şi că nu prezintă zona balamalei. Cuplarea lanţurilor grele, denumite μ, se face prin 4 punţi disulfidice. Acelaşi tip de legătură chimică fixează lanţul uşor (κ sau λ) de cel greu,

Scanned with OKEN Scanner

inserându-se pe acesta la joncţiunea VH-CH1. Cei cinci monomeri sunt uniţi între ei prin intermediul unui polipeptid denumit J (*joining*). Acest lanţ polipeptidic J este bogat în cisteină şi are o masa moleculară de 15 000 daltoni. Antigenicitatea lanţului greu diferenţiază două subclase de molecule IgM1 şi IgM2. IgM serică este sub forma pentamerică şi numai o cantitate mică sub formă monomerică. Molecula de IgM are 10 situsuri combinative pentru cuplarea cu antigenul corespunzător.

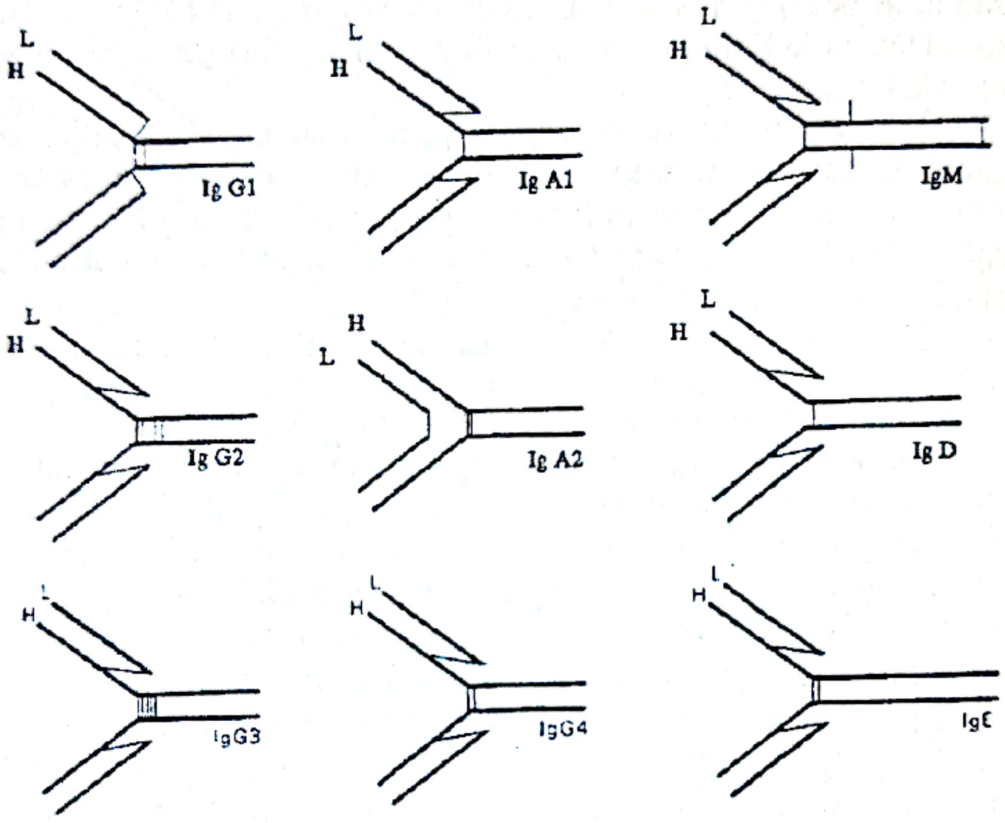

Fig.1-13. Distribuţia legăturilor disulfidice la diverse clase de imunoglobuline

IgA se găseşte în ser şi în secreţii exocrine. Timpul de înjumătăţire a IgA serice este de 5,8 zile. În ser, IgA este în majoritate monomerică şi o mică cantitate este polimerică la un grad variabil, cel mai frecvent di şi trimerică. Această formă polimerică este creată, de asemenea, cu participarea unui lanţ polipeptidic *J*. Masa moleculară a formei monomerice este de 160 000 daltoni, iar a formelor polimerice poate atinge chiar 1 000 000 daltoni. În secreţii se găseşte numai forma dimerică care la trecerea ei prin bariera epitelială fixează un nou polipeptid denumit piesă secretorie care are o masă moleculară de 60 000 daltoni. Această componentă secretorie sintetizată în celula epitelială conferă moleculei de IgA o mare rezistenţă la enzimele proteolitice cu care coexistă în secreţii (salivă, lacrimi, colostru). Organizarea unui monomer de IgA este identică structural cu cea a moleculei de IgG, adică două lanţuri uşoare (κ sau λ) şi două lanţuri grele α unite prin acelaşi tip de legături disulfidice. Se cunosc două subclase de IgA: IgA1 (majoritară) şi IgA2.

Scanned with OKEN Scanner

Ele se deosebesc după structura antigenică şi după felul fixării lanţurilor uşoare. În subclasa A2 lanţurile uşoare sunt conectate între ele prin legături disulfidice, iar fixarea lor pe lanţul greu α se face prin punţi de hidrogen şi nu prin legături disulfidice ca în clasa A1.

IgE este denumită şi *reagină*. Se găseşte în ser în cantitate foarte redusă, de ordinul nanogramelor. Timpul său de înjumătăţire este de 2,3 zile. Se caracterizează prin capacitatea sa puternic citofilică pentru mastocite şi bazofile. Fixarea ei pe celulă se face prin extremitatea sa Fc. Are o masă moleculară de 190 000 daltoni, iar structural este organizată ca o moleculă de IgG. Dar ca şi monomerul de IgM are un domeniu suplimentar (CH4) şi este lipsită de zona balamalei.

IgD se găseşte în ser în cantitate foarte redusă (sub 1 mg/ml). Timpul său de semiviaţă este de 3 zile. IgD este fixată pe membrana limfocitelor B unde îndeplineşte rolul receptorului pentru antigen. Este monomerică şi are o masă moleculară de 180 000 daltoni. Este susceptibilă la degradare proteolitică. Un caracter structural unic este raportul între numărul de molecule care conţin lanţuri uşoare κ faţă de cele care conţin tipul λ. La IgD acest raport κ/λ este 1/4, pe când la toate celelalte tipuri de Ig este 3/2.

În tabelul următor sunt prezentate câteva caractere ale claselor de Ig:

Caracteristici	**IgG**	**IgA**	**IgM**	**IgD**	**IgE**
Concentraţie serică (mg/dL)	1000	200	120	3	0,05
Concentraţie serică %	75	19	6	0,001	0,00003
Semiviaţa serică (zile)	23	6	5	3	2
Sinteză zilnică (mg/kg)	3	24	6-7	0,4	0,2
Coeficient de sedimentare (S)	6-7	7	19	7-8	8

Tipuri de imunoglobuline. După cum s-a arătat, moleculele de anticorpi nu sunt identice. Ele sunt variate. Acest polimorfism molecular este determinat genetic. Fiind proteine şi privite deci din acest punct de vedere, Ig prezintă determinanţi antigenici. Aceştia sunt de ordin izotipic, alotipic şi idiotipic.

Determinanţii antigenici izotipici se găsesc la toţi membrii unei specii şi lipsesc la componenţii altor specii. În cazul Ig ei sunt localizaţi pe regiunea constantă a lanţurilor grele şi le împart pe acestea în izotipuri sau clase (IgG, M, A, E, D). Aceste clase sau izotipuri sunt de două forme: una cu lanţuri uşoare κ şi alta cu λ. Pe lanţul uşor λ se înscriu în regiunea sa constantă trei variante izotipice rezultate din combinaţiile determinanţilor antigenici Kern şi Oz.

În interiorul aceleiaşi clase de Ig există diferenţe alotipice şi idiotipice. Determinanţii sau markerii alotipici ilustrează diferenţele între moleculele aceleaşi clase de Ig, dar aparţinând unor indivizi diferiţi. Alotipurile rezultă din variaţiile moştenite ale genelor care codifică anume secvenţe de aminoacizi din regiunea constantă a lanţurilor grele şi uşoare. Până în prezent se recunosc următoarele sisteme de determinanţi antigenici alotipici: Gm, Am, Km şi Isf

Sistemul Gm (m = marker) aparţine lanţurilor grele ale moleculelor de IgG. Se cunosc în jur de 25 tipuri de markeri. Ei au localizări foarte variate de-a lungul lanţului. De exemplu fragmentul Fc poartă determinanţii Gm 1, 2, 9, 18 şi 20, iar fragmentul Fd pe cei notaţi 4 şi 17.

Scanned with OKEN Scanner

Sistemul Am caracterizează markerii antigenici situaţi pe regiunea constantă a lanţurilor grele ale moleculelor de IgA2. Se disting 2 alotipuri A2m. Genele care codifică determinanţii antigenici ai sistemelor Gm şi Am se află pe acelaşi cromozom.

Pe fragmentul Fc al lanţului greu al moleculei de IgG1 s-au identificat markeri alotipici implicaţi în tipul şi fixarea componentei glucidice. Ei sunt marcaţi Isf.

Determinanţii *sistemului Km* se află pe lanţurile uşoare κ. Sinteza celor trei variante cunoscute este controlată de alele specifice care aparţin unor gene situate pe alt cromozom decât cel responsabil de crearea sistemelor Gm şi Am ale lanţurilor grele.

Markerii antigenici izotipici şi alotipici sunt plasaţi pe regiunile constante ale lanţurilor polipeptidice grele şi uşore. Determinanţii idiotipici se află însă în zonele variabile (VH şi VL), uneori chiar în interiorul situsului combinativ. Această localizare este indusă de specificitatea anticorpilor faţă de un anumit antigen şi reprezintă un caracter particular al fiecărui individ. Cu alte cuvinte, la aceeaşi stimulare antigenică, fiecare individ fabrică regiuni variabile specifice numai lui, deşi toate reacţionează cu acelaşi antigen. Determinanţii idiotipici se găsesc atât pe moleculele de Ig circulante cât şi pe receptorii imunoglobulinici de pe limfocitele B şi T ale subiecţilor imunizaţi cu acelaşi antigen.

Existenţa determinantului idiotipic este variabilă ca durată. El poate dispărea sugerând că clona celulară sintetizatoare şi-a încetat activitatea în lipsa stimulării antigenice. O restimulare antigenică îi induce reapariţia care este de asemenea temporară.

Idiotipul este o caracteristică a claselor IgM şi IgG sugerând evoluţia şi comutarea imunizării primare şi secundare.

Controlul genetic al sintezei de imunoglobuline. Sinteza imunoglobulinelor se face sub control genetic. În celulele precursoare sau germinative, genele nu se găsesc ca atare ci ca fragmente care se asamblează într-o unitate funcţională numai în celulele diferenţiate, în cazul de faţă celula formatoare de anticorpi denumită şi *plasmocit*. În prezent se admite că mai multe gene concură la formarea unei molecule de anticorp. Se recunosc trei familii distincte de gene: una pentru lanţurile uşoare de tip κ, alta pentru lanţurile uşoare de tip λ şi cea de a treia pentru lanţurile grele ale tuturor claselor şi subclaselor de Ig.

Sinteza lanţului uşor. Genele care codifică sinteza lanţului uşor sunt diferite pentru tipul κ şi pentru tipul λ. Complexul genetic κ este cel mai simplu sistem genetic funcţional în domeniul sintezei de Ig. Ca şi celelalte sisteme genetice el va fi prezentat într-o formă simplificată.

În genom există peste 100 secvenţe nucleotidice ale regiunii variabile a lanţului uşor (Vκ1, Vκ2 ....Vκ*n*) (fig.1.14). Regiunea constantă (Cκ) este codificată de un singur fragment nucleotidic ceea ce semnifică faptul că toate lanţurile uşoare κ au aceeaşi structură a porţiunii constante. Conectarea unuia dintre segmentele codificatoare ale regiunii variabile cu singurul fragment al regiunii constante se face prin intermediul unei piese de legătură J (joining) care există în cinci variante funcţionale (Jκ1, Jκ2.....Jκ5). Câte unul din aceste segmente genetice funcţionale

Scanned with OKEN Scanner

(VκX, JκX şi Cκ) se recombină într-un lanţ DNA de pe care sunt transcrise în structura RNA nucleolar. Aici are loc eliminarea zonelor de legătură lipsite de informaţie. RNA mesager preia această informaţie completă şi precisă şi o va transmite spre RNA ribozomal.

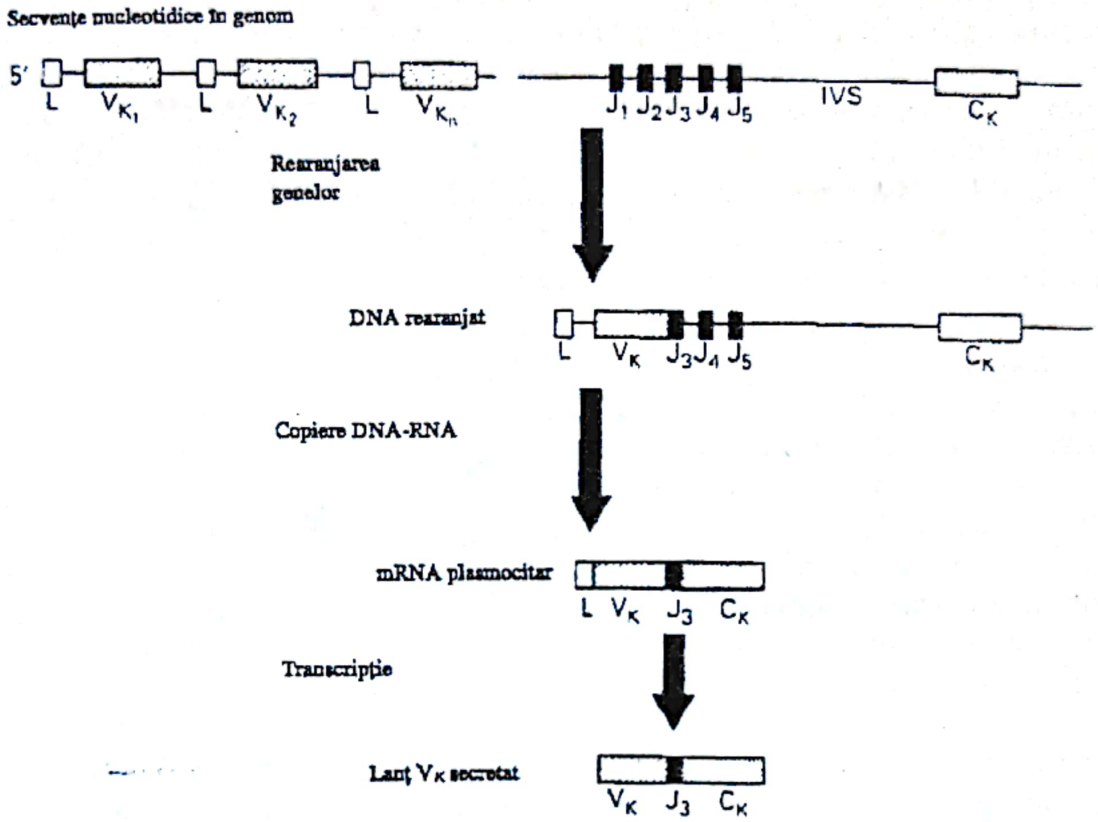

Fig.1-14. Sinteza lanţului uşor κ

La om genele lanţului uşor de tip λ (Lλ) sunt folosite numai pentru o treime din moleculele de Ig. Aceste gene se găsesc pe cromozomul 22. Repertoriul genetic al diversităţii segmentului variabil Vλ este mai redus ca la lanţul κ. Regiunii constante (Cλ) i se recunosc în jur de şase variante nucleotidice. Ele corespund regiunilor purtătoare ale markerilor Ke şi Oz. În cazul sintezei lanţului uşor λ există mai multe unităţi J. Formula genetică de sinteză a lanţului uşor λ este VλX, JλX, CλX.

În ambele cazuri de sinteză a lanţurilor uşoare (κ sau λ), în limfocitul B se selectează numai câte o variantă structurală, produs al unui singur locus genetic cu formula generală V/J/C.

· ***Sinteza lanţului greu***. În cazul lanţului greu există, de asemenea, o multitudine de secvenţe nucleotidice (VH1, VH2....VH*n*) ce codifică o mare parte din porţiunea sa variabilă. După reţinerea unui singur segment (corespunzător antigenului implicat), unitatea genetică de control a sintezei întregii porţiuni variabile se completează cu fragmentele: D (Diversity) şi J (Joining) (fig.1.15).

Scanned with OKEN Scanner

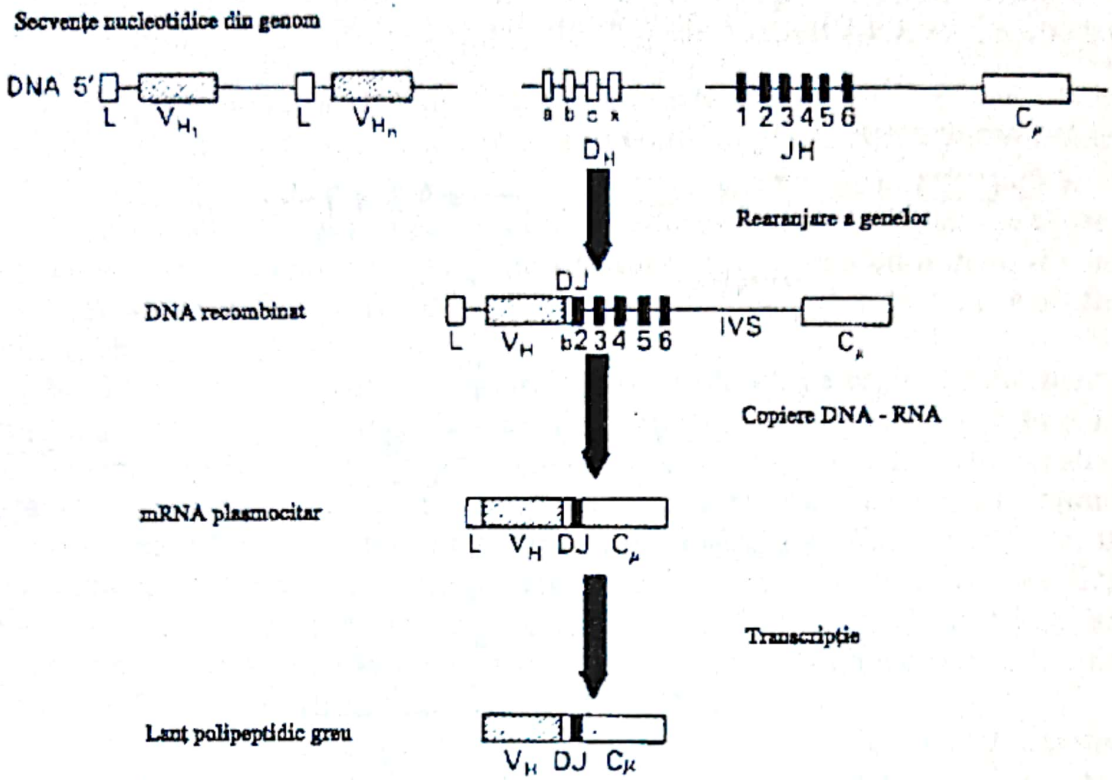

Fig.1-15. Sinteza lanţului greu μ

Fragmentul DH este responsabil de sinteza celei de a treia porţiuni hipervariabile din VH care corespunde zonei marcate CDR3 (Complementary Determining Region). Deseori ea conţine idiotipul moleculei de Ig. Fragmentul DH există în mai multe variante. Fragmentul J, prezent aici în şase tipuri, controlează sinteza polipeptidului de legătură cu porţiunea constantă a lanţului greu. Porţiunea variabilă a lanţului greu este deci codificată de ansamblul VHXDHXJHX.

În sinteza lanţului greu, când se produce asamblarea genelor corespunzătoare, sunt inserate temporar la locul joncţiunilor V/D şi D/J o serie de nucleotide scurte (denumite regiuni N). Aceste inserţii sunt produse de o enzimă (TdT = deoxynucleotidyltransferază terminală) care se identifică în limfocitele imature.

Domeniile regiunii constante şi zona balamalei sunt codificate de segmente genetice diferite. Subunităţile de control ale acestei regiuni sunt asamblate compact în RNA nucleolar. Informaţia este apoi preluată de RNA mesager şi transmisă spre RNA ribosomal. În cazul moleculelor de IgM se deosebesc două forme distincte de RNA mesager. Una dintre ele este implicată în sinteza formei monomerice de IgM care funcţionează ca receptor de membrană pentru limfocitul B şi este uneori marcată μm. Cealaltă contribuie la sinteza formei pentamerice, secretorii de IgM şi este marcată μs.

Scanned with OKEN Scanner

Comutarea tipului de secreție de Ig. În evoluția sa, un limfocit B trece prin mai multe etape funcționale. Inițial fabrică numai molecule de IgM de suprafață, folosite ca receptori. Apoi produce IgM (pentameric, secretor) și IgD (receptor). În final își comută producția spre alte clase de Ig (G, A sau E) care își păstrează însă aceeași specificitate față de antigen. Acest ultim fapt sugerează ideea că într-o celulă dată, în procesul imunizării, regiunea variabilă se menține neschimbată la toate clasele de Ig, mutațiile producându-se numai în structura lanțului greu. Această convertire se explică prin existența unor locusuri genetice diferite (după clasă) în zona care codifică regiunea constantă a Ig. Ele se succed în ordinea Cμ, Cδ, Cγ, Cε, Cα. Strânsa vecinătate între regiunile Cμ și Cδ permite o sinteză simultană de IgM și IgD ce conțin aceeași regiune variabilă. Procesul se produce într-un fel asemănător secreției paralele de μm și μs. În ceea ce privește mănunchiul CH γ (γ1, γ2, γ3, γ4) ca și porțiunile constante ale celorlalte două spețe de lanțuri grele Cε și Cα, acestea au regiunile codificante foarte îndepărtate de Cμ și Cδ. Sinteza acestor clase noi de Ig sugerează o nouă recombinare genetică într-o altă formulă. Această comutare a recombinării este mediată de segmente de DNA localizate anterior genei regiunii constante a lanțului greu respectiv. Ele sunt notate S (Switch = comutare) și sunt implicate în inițierea acestui proces.

Formarea propriu-zisă a moleculei de Ig are loc în citoplasmă în granulele ribozomale. Aici se găsește RNA ribozomal ce se află la capătul efector al transmiterii informației. El dictează ordinea cuplării aminoacizilor constituenți ai diverselor lanțuri ușoare sau grele. Sintetizate separat, într-un raport bine echilibrat, cele două tipuri de lanțuri polipeptidice sunt apoi asamblate în molecule individuale de Ig. Cuplarea se petrece în cisternele ergastoplasmice. Tot aici începe și atașarea moleculei glucidice, fenomen prin care se întregește structura monomerului Ig. Vezicule pline cu Ig se deschid la suprafața celulei și anticorpii sunt eliberați în mediu.

Polimerizarea moleculelor de IgA (dimer, trimer) și IgM (pentamer) se realizează în acest ultim moment de pasaj prin membrana celulară. Faptul este susținut de observația că în interiorul celulei nu s-au găsit decât Ig monomerice, iar în exterior se găsesc constant molecule polimerice. Procesul este sub control enzimatic și implică participarea polipeptidului J. Se creează în plus legături disulfidice.

În cazul IgA mai are loc și fixarea piesei secretorii, care este atașată dimerului IgA la pasajul acestuia prin celula epitelială.

Se apreciază că un limfocit B poate sintetiza, atunci când lucrează „la turație maximă", aproximativ 1000 molecule de Ig pe secundă. Timpul necesar pentru fabricarea unei molecule de anticorp este de 20 minute, majoritatea consumându-se în transportul intracelular, mai ales la fixarea componentei glucidice.

Controlul genetic al secreției de Ig este în fapt mult mai complex. In timpul activității intervin în plus o serie de alte fragmente nucleotidice (exoni, introni etc.) care joacă diverse roluri, dar care nu au fost menționate în mod deliberat pentru a ușura înțelegerea procesului.

Scanned with OKEN Scanner

Ipoteze asupra diversității anticorpilor. Mecanismul genetic al recombinării somatice, anterior schițat, este acceptat în prezent ca explicație pentru diversitatea foarte mare a anticorpilor. Prin calcul s-a apreciat că numai numărul tipurilor de lanț greu care se pot realiza prin acest mecanism este de aproape 2 000 000.

În concluzie, se poate spune că într-o fază inițială, nedeterminată de antigen, celulele precursoare își sintetizează receptori din clasele IgM și IgD. Urmează apoi o fază antigen dependentă prin care substanța străină organismului selectează o linie limfocitară B. Acest lucru este posibil datorită adaptării complementare specifice a antigenului numai la receptorii unei singure celule B. Contactul cu antigenul îi induce acesteia o proliferare și activare funcțională cu secreție de Ig. Se nasc noi celule identice cu celula susă (clonă celulară) care produc inițial IgM și apoi IgG, IgA sau IgE.

Trebuie subliniat faptul că în tot acest proces specificitatea zonei variabile a tuturor claselor de Ig (receptori sau molecule secretate) rămâne identică, nemodificată. Are loc însă o schimbare a tipului lanțului greu datorită comutărilor produse.

Diversitatea foarte mare a anticorpilor a mai fost explicată prin teoria liniei germinative care consideră că există gene care conțin întreaga informație, atât pentru sinteza porțiunii constante, cât și pentru a celei variabile din moleculele de Ig. La o stimulare antigenică celula formatoare de anticorpi dezvoltă o singură genă și generează Ig specifice. După calcul, în lumina acestei teorii, ar exista aproximativ un milion de tipuri de molecule de anticorpi.

Distribuția și catabolismul anticorpilor. Ig se găsesc cu predominanță în ser și în secreții. Ele nu depășesc bariera hemato-encefalică, dar trec de bariera fetoplacentară asigurând apărarea imună a fătului. Această trecere este posibilă numai pentru moleculele de IgG, datorită unor receptori Fc specifici, care se găsesc pe celulele placentare. Caracteristic este faptul că fixarea IgG pe receptorii Fc nu este urmată de modificări în stereochimia moleculei sau de degradarea ei. Pasajul începe din luna a IV-a și fiind un proces activ determină o concentrație fetală superioară celei materne.

Anticorpii care aparțin celorlalte clase (IgM, IgA, IgE) nu sunt transferați.

Existența IgM în serul fătului este consecința unei secreții proprii care poate apare din săptămâna a 20-a. Situația este mai bine exprimată dacă fătul a contractat o suferință ca lues, toxoplasmoză, rubeolă etc.

La om, transferul IgM prin lapte în perioada postnatală este foarte redus pentru că nou născutul are un puternic aparat secretor digestiv care le degradează.

Procesul de sinteză și catabolism zilnic de IgG, la omul normal, este în jur de 2 g. Stările de malnutriție afectează puțin sinteza de Ig. Aceasta este influențată numai după ce producția de albumină a scăzut foarte mult.

Apreciată prin timpul de înjumătățire in vivo (T1/2), degradarea variază în funcție de vârstă, metabolismul bazal al individului, concentrația serică și clasa de Ig. Astfel T1/2 al Ig este în jur de 20 zile, fiind influențat de nivelul seric. T1/2 al IgM și IgA este de 4-5 zile, iar catabolismul lor se face independent de nivelul seric.

Degradarea se produce cu mare probabilitate în celulele sistemului reticuloendotelial, localizate mai ales în compartimentul vascular. Se consideră că sunt catabolizate în special moleculele „îmbătrânite" care pot să fie modificate antigenic.

Scanned with OKEN Scanner

Proprietăţile biologice ale imunoglobulinelor. Substratul biochimic al funcţiilor principale ale Ig are localizări variate pe monomerul molecular. Calitatea de a lega antigenul aparţine fragmentului Fab, iar cea de fixare a complementului este localizată pe fragmentul Fc. Porţiunile variabile de pe lanţurile uşoare şi grele care sunt situate faţă în faţă reprezintă zona de fixare a antigenului. Această regiune se mai numeşte şi *situs combinativ* sau *paratop*. Structura sa primară este adaptată determinanţilor antigenici. Regiunile variabile nu sunt însă uniform variabile. Se deosebesc regiuni cu o variabilitate redusă şi zone cu o foarte mare variabilitate a aminoacizilor structurali ("zone fierbinţi"). Acestea din urmă au fost denumite *regiuni hipervariabile* sau CDR (Complementarity Determining Region). Pe lanţul uşor κ se disting trei astfel de zone (între poziţiile 24-34, 50-56, 89-97). Pe lanţul greu γ se deosebesc 4 asemenea zone (31-35, 50-65, 81-88, 95-102). Majoritatea acestor zone hipervariabile se găsesc pe buclele create de legăturile disulfidice intracatenare. Ele compun situsul combinativ. Unele dintre aceste zone constituie substratul determinanţilor antigenici idiotipici. Adaptarea spaţială şi puterea legăturilor chimice create definesc aviditatea anticorpului pentru antigen. Ea este sub control genetic şi se modifică în cursul imunizării. Ea este mai mică la anticorpii din clasa IgM decât la cei din clasa IgG, anticorpii fiind induşi de acelaşi antigen. Fixarea antigenului pe anticorp modifică angulaţia celor două braţe purtătoare de situsuri combinative. Forma în T a anticorpului capătă un aspect în Y. Închiderea braţelor se realizează pentru IgM şi pentru IgG în regiunea balamalei.

Numărul de situsuri combinative determină valenţa anticorpilor, care este de exemplu 2 pentru IgG şi 10 pentru IgM pentamerică. În funcţie de dimensiunea antigenului o parte din aceste valenţe pot rămâne nefuncţionale.

Unirea antigenului cu anticorpul corespunzător induce modificări conformaţionale la distanţă. Ele se produc în fragmentul Fc al lanţului greu şi la unele clase de Ig se manifestă funcţional prin dezvoltarea capacităţii de fixare a complementului.

Componenta C1q a complementului (prima secvenţă în activarea pe calea clasică) poate fi fixată numai de moleculele IgG (unele dintre subclase) şi IgM. Activarea complementului de către IgG impune participarea a minimum două molecule de anticorp (dublet) ataşate antigenului în strânsă vecinătate una de alta. Zona implicată în fixarea C1q este situată pe domeniul CH2 al moleculei de IgG. În cazul IgM, o singură moleculă de anticorp este suficientă pentru fixarea C1q. Ea se ataşează domeniului CH4 al IgM.

Fragmentul Fc este o piesă de identificare specifică a moleculelor de Ig de către receptorii Fc existenţi pe celule (polimorfonucleare, macrofage, limfocite). Anticorpii care se fixează pe aceşti receptori fără ca în prealabil să se fi cuplat cu antigenul se numesc *citofili*. Exemplul clasic este constituit de IgE care, prin fixarea pe suprafaţa mastocitelor sau bazofilelor prin extremitatea sa Fc, lasă libere capetele Fab pentru a lega antigenul. În afară de IgE o mică parte din IgG (5%) au proprietatea de citofilie, în special pentru macrofage.

Fixarea citofilică a IgG pe receptorii specifici Fc, de pe suprafaţa sinciţiotrofoblastului corionic, serveşte la transferul transplacentar de anticorpi de la mamă la făt. Această barieră este traversată numai de IgG.

Scanned with OKEN Scanner

Sinteza de Ig încheie funcţia arcului imun aferent a liniei limfocitare B, iar apariţia limfocitelor T citotoxice (Tc) finalizează instruirea imună a celulelor T.

ACTIVAREA LIMFOCITELOR T PRIN SUPERANTIGENE

Superantigenul este o categorie nou descrisă de antigene care sunt produse de unele bacterii şi de unele retrovirusuri. Proprietatea majoră a superantigenului este aceea de a scurtcircuita momentele captării şi prelucrării intracelulare a antigenului. Acesta se fixează direct pe partea exterioară a MHC clasa a II-a afişat de macrofag şi pe porţiunea variabilă V a lanţului β al receptorului pentru antigen al limfocitului T (TCR) (vezi fig.1.6). Urmarea acestui fenomen este o activare a circa 1-10% dintre limfocitele T periferice (mult mai mult decât în mod clasic), cu consecinţă imediată asupra secreţiei de citokine care devine profund excedentară şi care este responsabilă de varietatea şi intensitatea semnelor clinice. Stimularea imună prin superantigene este nespecifică şi nu produce secreţie de Ig specifice sau limfocite sensibilizate.

Un superantigen are o afinitate specifică faţă de un anumit tip de Vβ. Şocul toxico-septic produs în cazul infecţiei stafilococice este explicat prin faptul că enterotoxinele eliberate au afinitate specială faţă de Vβ2+. Marea cantitate de citokine elaborate este responsabilă de starea clinică severă. Indivizii care au această variantă alelică de TCR pot dezvolta o stare gravă în cazul unei infecţii stafilococice.

În prezent sunt multe comentarii despre o posibilă implicare a acestor superantigene în etiologia şi/sau patogenia poliartritei reumatoide şi a lupusului eritematos sistemic.

Experimental s-a arătat că superantigenele influenţează exprimarea genelor fas cu urmări pe apoptoză. Au apărut multiple speculaţii referitoare la o posibilă conectare a celor două elemente, stimulare imună nespecifică prin superantigene şi apoptoză, cu implicaţii şi în patologia umană.

RĂSPUNSUL IMUN CELULAR

Limfocitele T care şi-au completat dezvoltarea în timus şi au migrat în organele limfatice sunt *naive* din punct de vedere imunologic. Ele suferă un proces de recirculare permanentă. In timpul acestui proces ele ajung la organele limfatice pe cale sanguină, trec la nivelul venulei postcapilare din sânge în medulara ganglionară şi de aici pe cale limfatică tot în sânge. In 24 ore au loc cel puţin 1-2 circuite celulare. In clipa în care o celulă naivă care circulă întâlneşte în ganglion o celulă prezentatoare de antigen (CPA) care are expus pe suprafaţa sa polipeptidul antigenic cuplat cu MHC aceasta este oprită şi contactul între cele două celule devine foarte ferm. Atât trecerea limfocitară prin peretele venulei postcapilare, cât şi alipirea celor două celule (CPA şi limfocit T naiv) sunt determinate de expresia pe suprafaţa celulelor a unor molecule de adeziune.

Celulele dendritice tegumentare (Langerhans), după fixarea antigenului, ajung pe căi limfatice în cortexul ganglionar, în ariile T dependente. Acestea sunt

Scanned with OKEN Scanner

cele mai importante celule în prezentarea antigenului către limfocitul T naiv. Ele pot exprima la cote înalte MHC de ambele clase şi multiple molecule de adeziune (ICAM-1 şi 3, LFA-3). Celulele dendritice sunt foarte potente în activarea limfocitelor T.

Macrofagul, a doua CPA importantă, fagocitează în special microbi şi antigene particulate. Macrofagele se găsesc dispuse în toată aria ganglionară. Au o mare capacitate de digestie datorită foarte bogatului echipament enzimatic. Când produc o degradare totală a antigenului, acesta nu mai induce nici un răspuns imun.

Limfocitele B, ce se găsesc în special în foliculii limfatici ai ganglionului, fixează pe receptorii imunoglobulinici în special antigenele solubile, cum sunt mai ales toxinele bacteriene.

Toate aceste trei tipuri de celule prezintă antigenul limfocitului T. Contactul cu acesta le induce proliferare şi diferenţiere în celule T efectoare, "armate" capabile să îndepărteze antigenul. Celulele efectoare se diferenţiază în trei clase funcţionale care detectează antigenul ce este prezentat în două asocieri posibile cu antigenele MHC (clasa I şi clasa a II-a) de către celulele prezentatoare de antigen (CPA). Antigenele derivate din germenii care se multiplică în citosol sunt prezentate la suprafaţa CPA cuplate cu MHC clasa I, molecule care se recunosc cu molecula CD8 de pe suprafaţa limfocitului Tc (citotoxic). In consecinţă Tc va omorî celula infectată. Antigenele provenite din germenii care se multiplică în veziculele intracelulare ca şi antigenele derivate din germeni extracelulari fagocitaţi, sau toxinele lor, sunt prezentate la suprafaţa CPA în conexiune cu MHC clasa a II-a. Acestea se recunosc cu moleculele CD4 de pe suprafaţa celorlalte două grupe de limfocite T efectoare, T helper (numite şi Th2) şi T inflamatoare (numite şi Th1). Th1 activează macrofagele infectate ca să distrugă germenii patogeni intracelulari, iar Th2 activează limfocitele B antigen specifice ca să producă anticorpi.

Toate cele trei tipuri de CPA prelucrează antigenul, dar ultimele două (macrofagul şi limfocitul B) sunt în acelaşi timp şi ţinta unei activări din partea limfocitului care a fost stimulat.

Procesul de formare a limfocitelor T citotoxice, cele care sunt responsabile de apărarea imună celulară este foarte asemănător celui de producere a Ig. Cunoaşterea lui nu este însă de aceeaşi profunzime ca în cazul apărării imune serice.

ARCUL IMUN EFERENT - STRUCTURĂ -

La finalizarea funcţiei arcului eferent participă în afara produselor imunologic competente (Ig şi limfocite sensibilizate) şi o serie de elemente figurate sanguine (mastocite, eozinofile, neutrofile, bazofile, trombocite) şi de sisteme proteice solubile care se găsesc în plasmă, între care cel mai important este cel al complementului.

Scanned with OKEN Scanner

CELULE

Mastocitele sunt elemente figurate sanguine care au câteva caractere, printre care se numără:

– prezenţa de granule intracitoplasmatice care sunt încărcate cu mediatori chimici de diverse structuri şi funcţii:

• mediatori preformaţi ca histamina, carboxipeptidaza A, triptază etc.;

• mediatori derivaţi din lipide (nou formaţi) ca leucotriene B4, SRS-A (LTC4, D4 şi E4), prostaglandine (D2), factor de activare plachetară (PAF);

• citokine proinflamatorii (TNF-α, IL-1α, IL-1β, IL-6), mitogene (IL-3, 4, 5, 10), imunomodulatoare (IL-1α, IL-1β, IL-4, IL-10, IFN-γ);

– expresia pe suprafaţa celulei de receptori de mare afinitate pentru fragmentul Fc al moleculei de IgE (FcεRI), receptori care se găsesc şi pe bazofile; în afara lor se mai găsesc şi puţini receptori pentru acelaşi fragment al moleculei de IgG (FcγRII şi FcγRIII);

– în cazul localizării tisulare, ele se găsesc în vecinătatea microcirculaţiei suprafeţelor mucoase şi epiteliale.

Mastocitele au proprietatea de a fixa pe receptorii FcεRI molecule de IgE antigen specifice (sintetizate în urma stimulării antigenice). Această fixare nu produce modificări în comportamentul celulei. Dar fixarea ulterioară, în al doilea timp, a antigenului pe moleculele de IgE, deja ataşate la mastocit prin extremitatea lor Fc, induce descărcarea în mediul extracelular a mediatorilor chimici preformaţi şi tezaurizaţi în granulele citoplasmatice. Simultan, celula începe sinteza de noi mediatori pe care îi secretă în mediul extracelular.

Leucocitele polimorfonucleare neutrofile (PMN) sunt sintetizate medular. După o scurtă perioadă intracirculatorie (circa 12 ore) trec în ţesuturi pentru o viaţă de încă 4-5 zile. Granulele intracitoplasmatice sunt de două tipuri. Cele primare sau azurofile sunt încărcate cu hidrolaze acide, mieloperoxidaze, proteine cationice antibacteriene. Cele secundare conţin lactoferină, lizozom (muramidază), fosfatază alcalină. In timpul procesului de maturare celulară granulele secundare cresc în număr. Funcţia principală a PMN este fagocitoza, proces căruia i se recunosc patru etape:

• *Chemotactismul* se produce datorită unui gradient de stimuli chimici între zona inflamată şi vasele sanguine. Printre substanţele care dezvoltă această proprietate se numără C5a, LTB4, PGD2;

• *Aderenţa* se realizează sub influenţa moleculelor de adeziune ce sunt exprimate atât de celulele endoteliale cât şi de PMN, exteriorizare amplificată sub influenţa unor citokine;

• *Recunoaşterea* este urmarea existenţei diverşilor tipuri de receptori pe suprafaţa celulei care recunosc moleculele de Ig sau complement care au "învelit" particulele care vor fi fagocitate;

• *Ingestia.* După aderarea particulei (opsonizată sau nu), celula emite pseudopode care îmbracă elementul străin şi-l izolează într-o veziculă denumită fagozom. Aceasta este pusă apoi în contact direct cu granulele citoplasmatice încărcate în

Scanned with OKEN Scanner

material enzimatic. Astfel se formează fagolizozomul unde are loc degradarea enzimatică a particulei. În timpul digestiei are loc o scădere marcată de *p*H.

Polinuclearele bazofile au asemănări morfologice şi funcţionale cu mastocitele. Ele au receptori specifici pentru fragmentul Fc al moleculelei de IgE şi granule încărcate în histamină, serotonină, SRS-a, heparină. Spre deosebire de mastocite, unde procesul de degranulare declanşat de cuplarea antigenului cu molecula IgE lipită pe suprafaţa celulei este inhibat de cromoglicatul de sodiu, la celulele bazofile procesul nu are loc.

Polinuclearele eozinofile sunt sintetizate ca şi cele neutrofile şi bazofile în măduva osoasă. Granulele intracitoplasmatice sunt încărcate în enzime, iar în membrana celulară se găseşte lizolecitinază, substanţă care în mod spontan formează în ţesuturi şi fluide cristalele Charcot-Leyden. Eozinofilele sunt atrase spre ţesuturi de către citokine, dintre care mai semnificative sunt ECF (Eozinophyl chemotactic factor) şi C5a.

Trombocitele au pe suprafaţa lor receptori (pentru colagen, trombină, ADP, serotonină etc.), substanţe adsorbite (fibrinogen, factori ai coagulării V, IX, XII), iar în interiorul citoplasmei granule cu mediatori chimici (serotonină, catecolamine, ADP). Dată fiind fragilitatea mare a plachetelor, eliberarea conţinutului granular se face cu uşurinţă.

FACTORI SERICI

Factorii serici participanţi la arcul imun eferent sunt organizaţi în sisteme de proteine a căror activare se desfăşoară în cascadă. Deseori, elemente intermediare ale lanţului au diverse proprietăţi fiziologice care completează funcţia finală a sistemului.

SISTEMUL COMPLEMENTULUI

Proteinele componente ale acestui sistem sunt activate succesiv, în cascadă. O componentă activată reacţionează cu mai multe molecule ale următoarei etape, ceea ce duce la o mare amplificare a procesului. Rezultatul final este liza celulară. Unii produşi intermediari au proprietăţi enzimatice sau pot dezvolta acţiuni proprii proinflamatorii. Componentele sistemului complementului sunt marcate cu litera C urmate de o cifră şi alte litere care au diverse semnificaţii, de exemplu C1s este fracţiunea „s" a primei componente a complementului.

Se cunosc două căi de declanşare a activităţii acestui sistem denumite *clasică* şi *alternă*. Ambele variante se unesc la un anumit nivel urmând apoi o cale comună.

Calea clasică se derulează secvenţial după modelul enzimă-substrat. Reacţiile au un grad de specificitatate. In etapele intermediare ale reacţiei se eliberează în ser produse de clivaj dotate cu proprietăţi biologice active. Succesiunea activării fracţiilor este C1 - C4 - C2 - C3. Prima componentă este formată din trei subunităţi C1q, C1r, C1s, a căror coeziune este asigurată de ionul

de calciu. Elementul iniţiator al reacţiei este complexul imun format între un antigen (solubil sau component al unei membrane celulare) şi anticorpul corespunzător, dar acesta numai din clasele IgG (putere diferenţiată în funcţie de subclasă) sau IgM. Calea clasică mai poate fi activată de virusuri tumorale RNA, de unele endotoxine bacteriene sau de cristale de urat monosodic.

După fixarea anticorpului pe celulă, în lanţurile H ale moleculei de Ig se petrec modificări conformaţionale care duc la fixarea C1q. Cuplarea C1q se face pe domeniul CH2 (pentru IgG) sau CH4 (pentru IgM). Pentru activarea C1q este nevoie de minimum două molecule de IgG care să fie într-o strânsă vecinătate ("dublet") sau de o moleculă de IgM. După alipiri şi activări moleculare succesive, în finalul acestei faze se formează complexul C4b2a3b cu proprietăţi enzimatice, care datorită acestui fapt mai poartă numele de C3 convertază. Prin proteoliza limitată a C3 se produce un fragment C3a cu foarte importante proprietăţi biologice.

Calea alternă sau ***properdinică*** poate fi activată imunologic sau neimunologic. Iniţierea imunologică poate fi declanşată de IgA şi de unele molecule de IgG. Activarea neimună poate fi realizată de unele polizaharide complexe, de unele lipopolizaharide, de unele enzime asemănătoare tripsinei, endotoxine, iar experimental de zimozan şi inulină. Până în prezent s-au identificat şi izolat mai mulţi factori si căi alterne: properdina (P), factorii B, D, I, H. Detaliile evenimentelor sunt incomplet cunoscute şi în permanentă reconsiderare. Intre unele componente ale căii clasice şi ale căii alterne există asemănări structurale şi analogii funcţionale.

Derularea ambelor căi, clasică sau alternă, finalizează în activarea moleculei C3, cea mai bine reprezentată moleculă din punct de vedere cantitativ. Aceasta permite aprecierea cu uşurinţă a valorii ei serice, valorile scăzute indicând consumţie imună.

Sistemul de atac al membranei reprezintă porţiunea terminală a activării complementului (C5 - C9), comună ambelor căi, clasică sau alternă. Această ultimă secvenţă se ataşează de membrana celulară unde produce perforări. Canalele transmembranare forate permit scurgerea conţinutului citoplasmatic spre exterior şi egalizări osmotice consecutive între interiorul şi exteriorul celulei, cu liza acesteia.

Mecanismele de control ale complementului. Activitatea biologică a complementului este controlată de mai multe elemente. In primul rând este viaţa efemeră a unor componente activate. In plus, în ser există o serie de proteine naturale care au rolul de a modula şi a limita activarea unor componente.

C1 INH anihilează activitatea subunităţilor C1r şi C1q din structura C1 printr-o cuplare stoichiometrică ireversibilă, formând complexe neutre. Activitatea inhibitorie a C1 INH se extinde şi asupra altor sisteme. Factorii coagulării XII (Hageman) şi XI, factori care au proprietăţi enzimatice, ca şi plasmina care acţionează în sistemul fibrinolizei şi kalicreina, enzimă a sistemului kininelor, sunt, de asemenea, inhibate de C1 INH. Absenţa acesui inhibitor este la originea edemului angioneurotic congenital.

C3b INA este o proteină de control care atacă enzimatic C3b liber în soluţie sau ataşat unei celule şi degradează molecula producând două fragmente inactive (C3d şi C3e). Activitatea C3 INA este amplificată de o proteină denumită factor H.

Scanned with OKEN Scanner

O α1-globulină serică (carboxipeptidază N) inactivează anafilatoxinele C3a şi C5a, fragmente ale fracţiilor C3 şi C5 desprinse în procesul activării ambelor căi de activare.

Proteina S, denumită şi MAC INH (Membrane Attack Complex Inhibitor) formează cu ansamblul C567 un complex incapabil ataşării de membrana celulară.

Proprietăţile biologice ale complementului. Sistemul complementului este implicat prin oricare din căile de activare în liza multor feluri de celule cum sunt hematiile, limfocitele, bacteriile, virusurile cu capside lipoproteice. Această liza prin complement este precedată şi determinată de fixarea imună pe suprafaţa celulelor amintite a unor molecule de Ig.

Aderenţa imună şi fagocitoza sunt facilitate de faptul că fracţiile C3b şi C4b, odată fixate pe celule, servesc drept elemente suplimentare de recunoaştere de către celulele care au receptori specifici, cum sunt celulele fagocitare, limfocitele, eritrocitele. Macrofagele ca şi PMN, prin receptorii specifici menţionaţi, fagocitează mai uşor şi mai rapid complexele imune care au fixat complementul. Receptorii C3b şi C4b de pe suprafaţa limfocitelor sunt implicaţi în procesul imun. Cei prezenţi pe suprafaţa hematiilor determină fenomenul aderenţei imune, participând consistent la transportul sanguin al complexelor imune spre splină.

C3a şi C5a, fragmente ale fracţiilor C3 şi C5 desprinse în procesul activării, sunt denumite în comun *anafilatoxine.* Ele produc contracţia muşchiului neted, cresc permeabilitatea vasculară, eliberează amine vazoactive din mastocite şi bazofile şi induc eliberarea enzimelor lizozomale din granulocite. C5a are în plus capacităţi chemotactice şi stimulează eliberarea de SRS-A din mastocite.

SISTEMUL KININELOR PLASMATICE

Acest sistem de proteine plasmatice este constituit din proteine proprii şi proteine care aparţin altor sisteme biologice.

Cascada evenimentelor debutează prin activarea unui factor al coagulării - factorul XII (Hageman). Acesta este activat de contactul cu colagenul, cu elemente ale membranei bazale, cu cartilajul, cu endotoxine. Forma sa activă converteşte prekalicreina plasmatică în kalicreină, enzimă proteolitică care este implicată în:

– amplificarea autocatalitică a sistemului iniţial, a factorului Hageman;

– convertirea plasminogenului în plasmină;

– clivare dintr-un precursor proteic iniţial (kininogen) a unui peptid numit *bradikinină* ce produce vasodilataţie, creşterea permeabilităţii vasculare, contracţia muşchiului neted;

– activitate chemotactică faţă de PMN şi monocite la locul leziunilor tisulare.

Elementele de control ale acestui sistem se adresează factorului cheie care este *kalicreina.* Ea este neutralizată integral de C1 INH care se fixează pe partea activă a enzimei şi de o α2-macroglobulină care o inactivează parţial. Anti-trombina III este implicată, de asemenea, în inhibiţia kalicreinei.

În cazul edemului angioneurotic congenital, absenţa C1 INH face ca producţia de kinine active să rămână necontrolată. Se produc stări de edem

(declanşate de factori foarte variaţi) care prin localizarea lor respiratorie deseori pun în pericol viaţa bolnavului.

SISTEMELE COAGULĂRII ŞI FIBRINOLIZEI

Activarea acestui grup de proteine plasmatice se face, de asemenea, în cascadă, fenomen care este declanşat de factorul XII (Hageman). In treptele finale ale procesului are loc convertirea fibrinogenului în fibrină sub influenţa trombinei. Fibrinopeptidele produse în timpul activării acestui proces au proprietăţi chemotactice pentru PMN şi induc creşterea permeabilităţii vasculare.

Sistemul fibrinolitic ai cărui componenţi principali sunt plasminogenul şi plasmina contribuie la fenomenul vascular al inflamaţiei, mai ales prin conexiunile funcţionale pe care le are cu celelalte sisteme. Plasmina activează factorul Hageman, clivează cea de a treia componentă a complementului şi lizează cheagul generând produşi de degradare a fibrinei.

Se poate spune că între cele patru sisteme, complement, kinine, coagulare, fibrinoliză există o interdependenţă de acţiune. Factorul Hageman este elementul declanşant al formării kininelor şi al sistemelor coagulării şi fibrinolizei. Kalicreina are capacităţi de amplificare a efectelor stimulilor iniţiali. Plasmina lizează cheagul de fibrină şi activează C1, C3, C5. Trombina poate activa C3. C1 INH este angajat în inhibiţia sistemului complementului şi în controlul sistemului kininelor.

DERIVAŢII ACIDULUI ARAHIDONIC

Acidul arahidonic are drept precursor acidul linoleic, un acid gras esenţial nesaturat. Sursa principală de acid linoleic este alimentară, el găsindu-se în special în carne şi uleiuri vegetale. Printr-un proces de desaturare şi elongaţie a catenei se transformă în acid arahidonic, acid gras cu 20 de atomi de carbon. Acesta este încorporat în fracţia fosfolipidică a membranei celulelor organismului. Stimuli foarte variaţi, care sunt capabili să producă tulburări în structura stratului bilamelar fosfolipidic al membranei celulare, activează o fosfolipază specifică A2. Procesul este amplificat de ionii de calciu şi de cAMP. Odată disponibil, acidul arahidonic este supus în principal influenţei unor oxigenaze (ciclooxigenază sau lipooxigenază).

Ciclooxigenaza dă naştere derivaţilor denumiţi ***prostaglandine*** (PG), structuri care sunt marcate cu litere în funcţie de configuraţia inelului ciclopentanic. Cifrele de însoţire se referă la numărul şi/sau poziţia dublelor legături din moleculă. Ciclooxigenaza este inactivată de aspirină, indometacin, ibuprofen etc.

Endoperoxidul PGH2 poate avea multiple evoluţii sub variate influenţe enzimatice.

Prostaciclin-sintetaza, prezentă în endoteliul vascular şi în monocite, induce formarea prostaciclinei (PGI2), produs cu proprietăţi vasodilatatoare şi inhibante asupra agregării plachetare.

Tromboxan-sintetaza, enzimă care se găseşte în plachete, leucocite şi probabil în peretele vascular, generează tromboxanul A2 (TXA2), substanţă agregantă plachetară şi vasoconstrictoare.

Scanned with OKEN Scanner

O altă linie de evoluţie a endoperoxidului PGG2 este spre PGE2, care este sintetizată în special în medulara renală şi are acţiune vasodilatatoare. PGF2-α se găseşte în neutrofile şi macrofage. Are puternice efecte bronhoconstrictoare. Din mastocitul pulmonar se eliberează preferenţial PGD2, un vasodilatator puternic ce provoacă edem pasager şi infiltrat polimorfonuclear, mai ales dacă conlucrează cu leukotriena B4 (LTB4).

A doua posibilitate de evoluţie biochimică a acidului arahidonic este sub influenţa lipooxigenazei. Se formează un produs intermediar 5HPETE (hidroxi-peroxi-eicosa-tetra-enoic) care se degradează spontan sau se transformă (sub influenţa unei dehidraze) în ***leukotriene*** (LT). Printre proprietăţile biologice ale leukotrienelor se numără chemotactismul şi favorizarea migrării PMN. Leucotriena B4 (LTB4) este un foarte puternic agent chemotactic, comparabilă în acţiune cu C5a. LTC4 şi LTD4 au capacitatea de a induce spasm al musculaturii bronşice de 100 - 1000 ori mai intens decât histamina. LTE4 amplifică permeabilitatea vasculară de cel puţin 100 ori mai mult decât o face histamina. Complexul molecular LTC4 - LTD4 - LTE4 constituie SRS - A (Slow Reacting Substance of Anaphylaxis), mediator chimic implicat în menţinerea prelungă a crizei de astm. Lipooxigenaza, enzimă de dirijare a metabolismului acidului arahidonic spre leukotriene este inhibată de benoxaprofen.

Între produsele celor două sisteme există multiple relaţii sinergice şi antagonice. Dezechilibrele între funcţiile sistemelor prostaglandinic şi leukotrienic pot induce stări patologice grave. Aşa este cazul aspirinei care, prin blocarea ciclooxigenazei, anulează calea prostaglandinică, exacerbând astfel activitatea leukotrienelor. Astfel se explică criza violentă de astm bronşic care apare la unii bolnavi după ingestia de acid acetilsalicilic - astmul prin aspirină.

ARCUL IMUN EFERENT - FUNCŢIONALITATE -

Sistemul imun este format în principal din două tipuri de celule limfatice înalt specializate, limfocitele B şi T. El include, de asemenea, celule de origine hematopoietică (monocite/ macrofage şi granulocite) şi nehematopoietică (mastocite şi fibroblaşti) ce-i servesc ca elemente prezentatoare de antigen şi ca elemente efectoare. Ultimele celule pot fi privite şi ca elemente constituente ale sistemului inflamator cu care sistemul imun interacţionează.

Elementele majore efectoare ale arcului imun eferent sunt Ig (produsele limfocitelor B), limfokinele (produsele limfocitelor T CD4+ şi CD8+ activate) şi limfocitele T citolitice (celule care activate, omoară prin contact direct celulă-celulă). În cazul limfocitelor T, răspunsul inflamator este coordonat prin intermediul limfokinelor.

Scanned with OKEN Scanner

ACTIVITATEA EFECTOARE A LIMFOCITELOR B

După ce antigenul a fost fagocitat de celula prezentatoare de antigen (CPA), el suferă o digestie intracelulară până la nivelul de polipeptid. După o cuplare prealabilă cu MHC de clasa a II-a, acesta este expus pe suprafaţa celulei care intră în contact direct cu limfocitul Th CD4+. In urma contactului direct şi a stimulării suplimentare prin IL-1 elaborată de CPA, este activat limfocitul B specific care se transformă în plasmocit, celulă secretantă de Ig specifică antigenului stimulator. Anticorpul secretat reprezintă elementul efector al arcului imun eferent. El acţionează pentru îndepărtarea sau neutralizarea elementului agresor.

În cazul în care antigenul este solubil, molecular, se formează complexe imune circulante care sunt epurate de sistemul monocit/macrofag (Sistemul Reticulo-Endotelial = SRE).

În cazul în care antigenul face parte dintr-o membrană celulară, anticorpul se fixează pe celulă. Cuplarea ulterioară a complementului duce la liza celulară sau la eliminarea celulei prin fagocitoză de către SRE.

Anticorpul mai poate contribui la liza şi moartea celulei agresoare intermediind acţiunea citotoxică a altor celule (macrofage, granulocite, Natural Killer-NK-cells), în cazul reacţiei de citotoxicitate mediată de anticorpi (ADCC = Antibody-Dependent Cell-mediated Cytotoxicity).

COMPLEXE IMUNE

Anticorpul specific odată produs are o serie de efecte asupra antigenelor ţintă.

Neutralizarea antigenului este realizată de anticorpi, mai ales în cazul infecţiilor virale, când virusul este "îmbrăcat" de molecule de Ig. În acest mod capacitatea infecţioasă virală este deprimată.

Epurarea antigenului. Dispariţia unui antigen solubil din circulaţie se face după o curbă care prezintă trei faze. În prima fază are loc o egalizare a concentraţiei antigenice între sectoarele intra şi extravascular; ea este denumită faza de *echilibrare*. Antigenul este apoi *catabolizat* la un ritm identic cu cel al structurilor similare ale organismului gazdă. Rata sa de scădere este în funcţie de proprietăţile lui fizice şi chimice. În cea de a treia fază - *imună* - antigenul este eliminat datorită formării de anticorpi specifici. Apariţia şi creşterea cantităţii de complexe imune formate face ca dispariţia antigenului din circulaţie să fie accelerată. Clearance-ul agregatelor antigen-anticorp se face de către sistemul reticuloendotelial cu o rată mai lentă sau mai rapidă.

Dimensiunea complexului influenţează în mod fundamental rapiditatea eliminării sale din circulaţie. Mărimea complexului este determinată la rândul său de raportul antigen/anticorp, de greutăţile moleculare ale reactanţilor şi de afinitatea anticorpului faţă de antigen.

Rolul raportului între antigen şi anticorp a fost evidenţiat de clasica reacţie de precipitare (fig.1.16). Pentru demonstrarea acestei reacţii, la o cantitate

Scanned with OKEN Scanner

constantă de anticorp se adaugă cantităţi progresive de antigen şi se apreciază cantitatea precipitatului. Când antigenul folosit este multivalent se disting trei zone.

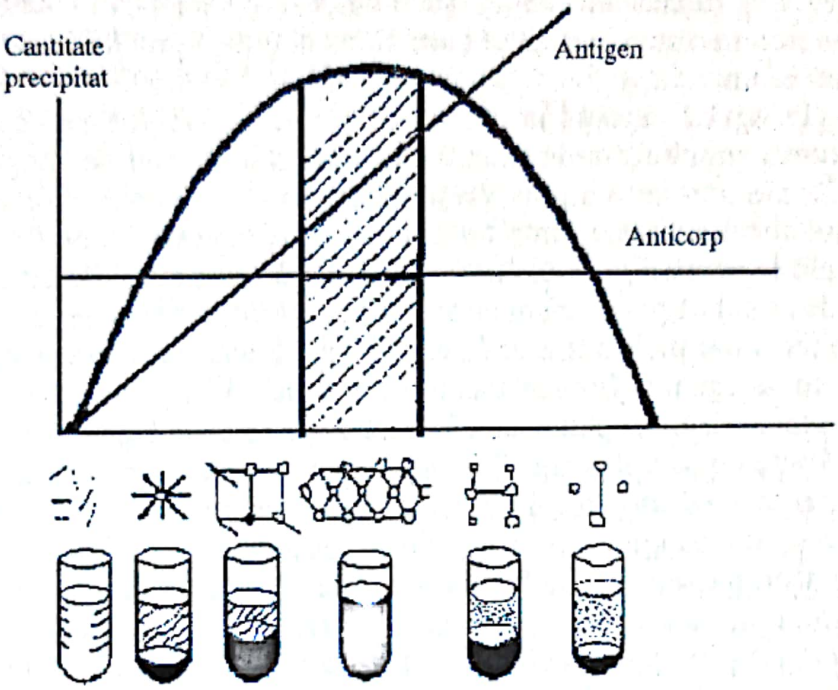

Fig.1-16. Reacţia de precipitare

Zona iniţială de exces de anticorpi se formează când raportul între antigen şi anticorp este în favoarea primului reactant. Complexele imune sunt mici şi se formează puţin precipitat. Adaosul progresiv de antigen face ca mai multe molecule de anticorp să fie angajate în reacţie. Complexele imune sunt mai mari. Cantitatea de precipitat creşte progresiv pe măsură ce se adaugă antigen. Există un moment când sunt interesate în mod maximal toate moleculele de antigen şi de anticorp. In aceste condiţii se formează o reţea insolubilă cu maximum de precipitat. Este zona de echivalenţă în care nu se depistează molecule libere de antigen sau de anticorp. Un aport suplimentar de antigen duce, prin rearanjarea reactanţilor, la micşorarea complexelor şi la reducerea reţelei. Cantitatea de precipitat scade pentru ca în zona excesului de antigen complexele să se redizolve şi precipitatul aproape să dispară. Complexele formate în zona de echivalenţă sunt insolubile. Cele formate în zona excesului de antigen sunt însă solubile.

Când antigenele sunt monovalente, complexele antigen-anticorp sunt foarte mici şi nu se formează precipitat.

Când antigenul sau anticorpul sunt elemente cu greutate moleculară mare se formează complexe mari. În cazul anticorpului din clasa IgM, în afara de greutatea moleculară mare a lui, la dimensiunea agregatului mai contribuie şi valenţa sa multiplă. Complexul creşte în dimensiune dacă moleculele de Ig sunt fixatoare de complement şi dacă în ser există factori reumatoizi. Aceste molecule

Scanned with OKEN Scanner

antiimunoglobulinice (factor reumatoid) pot converti complexele imune solubile în forme insolubile.

Dacă moleculele de Ig au o mare afinitate pentru antigen, complexele formate sunt mai stabile şi îşi pot amplifica mărimea prin adiţia de complement sau de factor reumatoid.

In vivo, la aportul unei doze de antigen, se reproduce situaţia descrisă, dar succesiunea etapelor este inversă. Se înscrie întâi excesul de antigen. Pe măsură ce sinteza şi secreţia anticorpilor creşte şi afinitatea lor se ameliorează, se realizează similarul zonei de echivalenţă cu formare de complexe imune foarte mari. Acestea sunt rapid fagocitate de celulele care au această proprietate. Procesul este foarte mult uşurat de faptul că polimorfonuclearele ca şi macrofagele au pe suprafaţa lor receptori Fc care recunosc moleculele de Ig ce şi-au modificat configuraţia stereochimică după unirea cu antigenul. Cuplarea complementului pe agregatele imune reprezintă o modalitate de fixare suplimentară a acestora pe celulele fagocitare dotate cu receptori pentru fracţii de complement. Cu cât complexele imune sunt mai mari prin cuplare de factori reumatoizi sau fracţii de complement, cu atât sunt mai aderente de celulele amintite şi sunt mai repede epurate din circulaţie.

Complexele imune formate în zona excesului important de antigen sau de anticorp sunt mici şi in vivo nu produc leziuni tisulare. Cele formate în moderat exces de antigen sau de anticorpi, datorită dimensiunii lor medii scapă epurării şi persistă în circulaţie, putând produce leziuni tisulare.

La epurarea complexelor imune din circulaţie, în afara dimensiunii lor şi a proprietăţii de a fixa complementul, mai contribuie şi funcţia SRE. Rolul important îl joacă receptorii Fc specifici pentru molecula de IgG (FcγR). Defecte cantitative sau calitative ale acestor receptori duc la persistenţa circulatorie a complexelor imune.

În transportul normal al complexelor imune care au fixat complementul un rol important îl joacă hematiile. Acestea având receptori pentru C3b (CR3) cuplează şi transportă complexele imune care au fixat complementul. Detaşarea complexelor imune are loc în principal în ficat şi splină. Eritrocitul nu este modificat, dar numărul receptorilor CR3 scade, diminuând prin aceasta capacitatea de transport.

Complexele imune persistente în circulaţie se pot depune în peretele vascular în zonele de turbulenţă, cum sunt bifurcaţiile arteriale, angulaţiile vasculare bruşte. Un factor important al depunerii în peretele vascular este constituit de creşterea permeabilităţii vasculare atribuite în mare parte histaminei eliberate de plachete. Complexele al căror antigen este puternic cationic sunt suspectate de a fi atrase de membranele bazale anionice, cum este cazul glomerulului renal. Aceeaşi localizare a depunerii (glomerulară) o au şi complexele imune mari (>19 S), în cazul în care acestea persistă în circulaţie.

Trebuie menţionat faptul că rolul biologic al complexelor imune este jucat şi de Ig agregate, agregare care se poate realiza in vitro prin expunerea moleculelor la căldură, la radiaţii UV.

Între suferinţele umane în a căror patogenie se consideră că rolul complexelor imune este important se numără boala serului, vasculitele, lupusul eritematos sistemic.

Scanned with OKEN Scanner

Detectarea complexelor imune. Complexele imune depuse tisular pot fi evidenţiate prin tehnici de microscopie cu imunofluorescenţă sau colorații imunoperoxidazice. Se folosesc anticorpi marcaţi care sunt dirijaţi împotriva Ig sau fracţiilor de complement existente în complexe. Antigenul rămâne necunoscut.

Pentru detectarea serică se folosesc multiple tehnici. Unele se bazează pe proprietăţile fizice ale complexelor (crioprecipitare, ultracentrifugare, precipitare cu polietilenglicol). Altele se bazează pe reacţiile cu antiglobuline (precipitare cu factor reumatoid), sau pe interacţiunile cu fracţiile de complement C1q, C3. În fine sunt tehnici care exploatează existenţa receptorilor de suprafaţă celulară a căror activare produce modificări metabolice (celule umane limfoblastoide Raji care au receptori numai pentru complement).

LIZA CELULARĂ PRIN COMPLEMENT

Anticorpii fixaţi pe determinanţii antigenici de pe suprafaţa celulei atrag la rândul lor complementul pe care îl activează. Pentru acest proces este nevoie de două molecule de IgG apropiate fixate pe membrană sau de o moleculă de IgM. Liza celulară se produce atunci când secvenţa complementului se derulează integral. Participarea ultimei fracţii a complementului este însă importată pentru accelerarea procesului. Se produc perforaţii neenzimatice în membrana celulară cu un diametru de 15-16 nm. Procesul este similar celui provocat de perforine, molecule secretate de celulele NK şi de limfocitele T citotoxice (Tc). Prin aceste canale se produc treceri necontrolate în ambele sensuri de apă şi electroliţi. La celulele nucleate membrana devine poroasă şi au loc şi treceri spre exterior de substanţe nobile intracelulare cu diverse greutăţi moleculare.

CITOTOXICITATE MEDIATĂ DE ANTICORPI

Celulele care pot dezvolta acest tip de reacţie sunt celulele care au pe suprafaţa lor receptori FcγRIII (CD 16). Cele mai importante sunt macrofagele, polimorfonuclearele, limfocitele killer, celulele NK.

Moleculele de Ig care sunt intermediari în acest tip de reacţie sunt de tip IgG1 şi IgG3. Celula ţintă este acoperită de acest tip de anticorpi specifici. Reacţia are loc deci fără participarea complementului. Celulele amintite produc liza celulei ţintă. Reacţia joacă un rol important în imunitatea antitumorală, antigrefă şi este implicată şi în apărarea antivirală.

ACTIVITATEA EFECTOARE A LIMFOCITELOR T

O modalitate de manifestare a contribuţiei limfocitelor T la apărarea specifică a organismului este însăşi producţia de anticorpi specifici, funcţie anterior menţionată.

Un alt fel de participare a limfocitelor T este prin inducerea unui răspuns inflamator la locul agresiunii, proces pe care-l realizează prin secreţia de limfokine al căror rol este de a recruta şi activa celulele inflamatorii (polimorfonucleare,

Scanned with OKEN Scanner

monocit/macrofage), celulele endoteliale vasculare, fibroblastul şi mastocitele. Aceste celule, odată activate, secretă la rândul lor citokine care au influenţe pe procesul imun.

A treia modalitate prin care limfocitul T devine o celulă efectoare este prin diferenţierea acestei celule în celulă cu capacităţi litice, proprietate pe care o dezvoltă prin contact direct. Fenomenul necesită prezenţa unor receptori pentru antigen şi contactul direct intercelular.

S-au demonstrat şi alte forme de activitate efectoare mediată celular prin intermediul celulelor NK (Natural Killer) care pot omorî celulele infectate viral şi celulele tumorale. Sub influenţa limfokinelor elaborate de celula T ele pot să se convertească în celule LAK (Limphokines Activated Killer).

PRODUCEREA DE LIMFOKINE

Limfokinele sunt molecule efectoare produse de limfocitele T activate. Ele au efecte autocrine şi paracrine asupra unei largi varietăţi de tipuri celulare. Ele sunt produse atât de limfocitele T CD4+, cât şi de T CD8+. Limfokinele au trei funcţii efectoare importante în dezvoltarea unei activităţi a limfocitelor T.

Reglarea proliferării, diferenţierii şi activării limfocitare. În acest proces sunt implicate mai ales trei limfokine:

– *IL-2* este cel mai bine caracterizată. Rolul ei cel mai important este de a mări numărul celulelor T antigen-specifice la locul inflamaţiei şi de a amplifica producţia de limfokine. In plus IL-2 stimulează proliferarea celulelor NK şi producerea de limfokine de către acestea (IFN-γ);

– *IL-4* este un produs al limfocitelor TCD4+. Proprietăţile paracrine se manifestă asupra celulelor Th2 implicate în comutarea sintezei de Ig spre IgE. In plus, prin secreţia de IL-5 (factor de activare eozinofilică produs tot de Th2), joacă rol important în reacţia alergică. Amplifică expresia moleculelor de adeziune ale celulei endoteliale (VCAM-1) şi induce proliferarea mastocitară;

– *TGF-β* (Transforming Growth Factor) este produs de multe tipuri celulare şi are efecte pe multe celule. Inhibă activarea şi creşterea celulară, contribuind prin feed-back negativ la autoreglarea răspunsului imun celular.

Activarea celulelor imflamatorii este un proces animat de trei produşi ai celulelor T:

– *IFN-γ* este produs de celulele T CD4+ activate ale seriei celulare T helper 1 (Th1) şi de celulele T CD8+. Amplifică activitatea fagocitară şi bactericidă a macrofagelor ca şi producerea de monokine ceea ce amplifică procesul imflamator. Creşte exprimarea pe toate celulele moleculelor MHC din clasa I şi a II-a şi adezivitatea leucocitară la celula endotelială. Activează celulele NK ca şi PMN;

– *Limfotoxina* (Tumor Necrosis Factor-β = TNF-β) este un activator şi mai puternic al celulei endoteliale şi al neutrofilelor în exprimarea moleculelor active de suprafaţă. Este produsă de limfocitele citolitice atât CD8+, cât şi CD4+;

– *IL-5* este produsă de limfocitele T CD4+. Este implicată în dezvoltatrea răspunsului imun la infestările parazitare, la răspunsul alergic sau atopic, răspuns imun mediat de eozinofile.

Scanned with OKEN Scanner

Producerea şi mobilizarea precursorilor celulelor inflamatoare, al treilea grup important de funcţii ale limfokinelor se realizează prin IL-3, Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF), Granulocyte Colony-Stimulating Factor (G-CSF), Monocyte-Macropfage Colony-Stimulating Factor (M-CSF). Toţi aceşti factori acţionează în sensul stimulării producţiei medulare şi eliberării de celule din măduva osoasă.

În afara lor, o serie de alte citokine eliberate de însăşi celulele inflamatorii, autostimulează activitatea celulelor producătoare, amplificând procesul inflamator .

CITOLIZA

Citoliza mediată celular este o modalitate de eliminare a antigenelor asociate celulelor. Mecanismul este implicat în combaterea infecţiilor virale (intracelulare), a unor bacterii, a protozoarelor parazite. Procesul joacă rol şi în expulzia de grefă şi activitatea de apărare antitumorală.

Majoritatea limfocitelor T citolitice sunt CD8+, foarte puţine fiind CD4+. Receptorul pentru antigen al limfocitelor CD8+ recunoaşte peptidul prezentat de CPA în asociere cu MHC clasa I. Inducerea capacităţii citolitice a celulelor T necesită activarea şi diferenţierea precursorilor în celule blastice. Acelaşi receptor pentru antigen este implicat apoi şi în diviziunea celulară şi în dezvoltarea capacităţii citolitice a celulelor fiice. Procesul durează câteva zile de la contactul antigenic. Simultan, celulelor T CD8+ le creşte numărul şi expresia receptorilor de suprafaţă pentru diversele citokine care le influenţează activitatea.

Apoi, într-o primă etapă a procesului litic se realizează o adeziune interactivă între limfocit şi celula ţintă prin intermediul unor molecule de adeziune (moleculele CD8, CD2, LFA-1 de pe limfocit şi MHC clasa I, LFA-3, ICAM-1 ale celulei ţintă). Această fază este tranzitorie. In cazul inexistenţei complexului molecular MHC-peptid antigenic pe celula ţintă limfocitul se desparte de aceasta. In cazul prezenţei acestui complex molecular, limfocitul T rămâne aderent şi este activat (modificări biochimice intracelulare). Intr-un interval de timp de ordinul minutelor se produce "lovitura letală", proces care se consideră că se realizează prin intermediul perforinelor, molecule similare componentei C9 a complementului. Apoi limfocitul se desprinde de pe celula ţintă. Pentru momentul următor, moartea celulei ţintă, există două ipoteze: una consideră că se produce o mare alterare a permeabilităţii membranei celulare cu echilibrări osmotice, iar cealaltă consideră că în nucleul celulei ţintă se produc modificări importante sub influenţa endonucleazelor celulare activate, modificări care duc la fragmentarea DNA. Apoi limfocitul T citotoxic (Tc) operează pe alte celule ţintă. Se consideră că un limfocit poate induce liza a circa 20 celule ţintă.

CELULE NK

Celulele NK (Natural Killer) au o origine medulară, dar distinctă de a limfocitelor T şi B cu care se aseamănă însă la microscopia optică. Aspectul lor morfologic le-a oferit denumirea de limfocite mari granulare. Numărul granulelor

Scanned with OKEN Scanner

intracitoplasmatice variază cu stadiul de diferenţiere şi starea de activitate. Celulele sunt prezente de la naştere, dar nu sunt induse de agresiuni imune. Celulele NK constituie 10-15% din limfocitele din sângele periferic şi 1-2% din limfocitele splenice. Ganglionul limfatic, plăcile Peyer, amigdalele şi timusul sunt lipsite de celule NK. Lipsa din canalul toracic indică lipsa lor de recirculaţie. Se mai găsesc în număr mic în interstiţiul pulmonar, mucoasa intestinală şi ficat.

Celulele NK au o serie de markeri moleculari de suprafaţă care le conturează identitatea. Intre aceştia se numără CD16 care este receptorul pentru fragmentul Fc al moleculei de IgG (IgG1 şi IgG3). De asemenea, la toate celulele se întâlneşte markerul CD56 care este asemănător unei molecule de adeziune (NCAM = Neural Cell Adhesion Molecule). Pe suprafaţa celulei se mai găsesc şi markeri comuni şi altor linii celulare.

Celulele NK sunt citotoxice pentru celulele tumorale şi pentru cele autologe infectate viral. Pentru dezvoltarea activităţii citotoxice ele nu au nevoie de recunoaşterea moleculelor MHC de pe celula ţintă. Celulele NK omoară celula ţintă prin perforarea membranei celulare, formând pori, prin care au loc schimburi ionice necontrolate şi moartea celulei. Moleculele responsabile de formarea porilor sunt denumite *perforine*, care sunt eliberate din granulele intracitoplasmatice şi se inseră în membrana celulei ţintă unde polimerizează formând canale. Activitatea citotoxică a celulelor NK este amplificată major de IL-2 şi de interferoni. In timpul activităţii eliberează numeroase citokine cu diverse adrese (IL-1,2,4, IFN-γ, TNF-β). Celulele NK nu au specificitate antigenică şi nici nu dezvoltă memorie imună după diverse contacte imune. Uneori, în activitatea ei, celula poate dezvolta citoliză anticorp-dependentă (ADCC).

În afara funcţiei litice, celulei NK i se identifică şi o activitate regulatorie care se realizează prin intermediul unor citokine şi se adresează celulelor limfohematopoietice.

În *concluzie* se poate spune că îndepărtarea antigenului pe cale imună, fie cu ajutorul Ig, fie cu ajutorul celulelor, este un proces complex care se concentrează spre o cale finală comună, răspunsul inflamator.

LEZIUNI TISULARE PRIN MECANISM IMUN

Deşi sistemul imun are în general un rol de protecţie, aceleaşi mecanisme prin care organismul este apărat pot să determine leziuni tisulare severe şi uneori pot produce chiar moartea individului. Aceste stări au fost definite de Gell şi Coombs reacţii de hipersensibilitate pe care le-a împărţit în 4 categorii.

Scanned with OKEN Scanner

HIPERSENSIBILITATEA IMEDIATĂ
- TIPUL I -

În acest tip de hipersensibilitate antigenul reacţionează cu anticorpul corespunzător care este fixat pe o celulă. Antigenul care mai poartă în acest caz şi numele de alergen poate fi extrem de variat ca polenuri, medicamente (antibiotice, antiseptice, vitamine etc.) praf, alimente, seruri, hormoni etc. Anticorpul este de obicei din clasa IgE, iar celulele pe care acesta se fixează sunt mastocitul şi bazofilul. Expresia clinică poate fi, de asemenea, variată de la simple alergii alimentare până la moarte rapidă (şoc anafilactic). Moleculele IgE sunt produse în principal de plasmocitele mucoasei respiratorii şi ale tractului gastrointestinal. Reglarea producţiei de IgE este sub controlul limfocitelor T helper (Th). Celulele Th 2 produc IL-4 care comută producţiei de IgM spre IgE, iar limfocitele Th 1 produc IFN-γ care blochează efectul IL-4.

În timpul procesului de sensibilizare, antigenul induce secreţie de IgE. Aceste molecule se fixează prin fragmentul lor Fc pe bazofile şi mastocite, lăsând neocupate fragmentele Fab. La un al doilea contact cu antigenul, acesta se fixează pe Fab disponibil al moleculei de IgE ataşată de celulele menţionate. Cuplarea produce modificări în interiorul mastocitelor şi bazofilelor cu eliberarea mediatorilor chimici preformaţi şi tezaurizaţi în granule şi, de asemenea, induce sinteza altora noi. Intre mediatorii preformaţi se numără histamina care este responsabilă de contracţia musculaturii netede (bronhospasm), creşterea permeabilităţii capilare, creşterea secreţiilor nazale. Un alt mediator important este serotonina (implicată în contracţia musculaturii netede). Mai sunt eliberaţi factori chemotactici pentru eozinofile (ECF-A) şi pentru neutrofile (NCF-A). Intre mediatorii nou sintetizaţi se numără un factor de agregare plachetară (PAF), SRS-A, LTB4, PGE1 , PGE2. Organele de şoc variază de la specie la specie, plămânul la om şi cobai, cordul la iepure, ficatul la câine. Reacţia imună de tip I este implicată extrem de rar în patogenia bolilor reumatice.

REACŢIA CITOTOXICĂ
- TIPUL II -

Reacţia citotoxică se realizează cu participarea moleculelor IgG şi IgM care reacţionează cu antigene care sunt fixate pe membrana celulară, fie că fac parte din structura acesteia, fie că sunt adsorbite de aceasta. Procesul destructiv suferit de celulă este urmarea posibilă a unuia din cele trei mecanisme:

– liza sau inactivarea celulei ţintă prin activarea complementului;

– fagocitoza celulei ţintă cu sau fără participarea complementului;

– liza sau inactivarea celulei ţintă dependentă de anticorpi prin activitatea celulelor NK.

Multiplele tipuri de reacţii citotoxice pot fi grupate după felul celulei ţintă.

Cel mai important fenomen clinic este întâlnit la hematie, unde reacţia citotoxică este exemplificată de reacţia transfuzională în cazul unor incompatibilităţi fie în sistemul ABO, fie în sistemul Rh. Urmarea recţiei citotoxice

Scanned with OKEN Scanner

este hemoliza. Fenomenul hemolitic se mai poate întâlni şi în cazul existenţei unor anticorpi specifici creaţi de condiţii patologice (leucemie limfatică, mielom, lupus eritematos sistemic etc.).

Alt exemplu de afectare citotoxică este cel suferit de granulocite. Aşa se explică, de exemplu, granulocitopenia din lupusul eritematos sistemic.

Existenţa anticorpilor antitrombocitari este la originea sindromului hemoragipar din purpura trombopenică idiopatica (PTI).

În patologia renală sindromul Goodpasture este exemplul clasic.

REACŢIA PRIN COMPLEXE IMUNE
- TIPUL III -

Complexele imune se pot forma la locul ţesutului lezat sau se depun ca urmare a lipsei lor de eliminare din circulaţie de către sistemul monocit/macrofag. Complexele imune mari, care au fixat poate şi fracţii de complement sunt cu uşurinţă epurate. Complexele imune mici sunt cele care sunt implicate în producerea leziunilor, deoarece scapă mecanismelor de epurare. Ele traversează endoteliul vaselor sanguine, probabil cu ajutorul aminelor vasoactive eliberate de plachete şi bazofile. Activarea complementului la locul de depunere are drept consecinţe importante creşterea permeabilităţii vasculare şi chemotactismul PMN. Aceasta se realizează prin eliberarea în timpul activării complementului a unor fragmente care au proprietăţile amintite (C3a, C5a). În acest mod, la locul depunerii tisulare se creează un important proces inflamator.

Între suferinţele umane care recunosc ca mecanism de producere imun pe cel produs de complexele imune, se numără boala serului, glomerulonefrita acută poststreptococică şi o serie de boli considerate autoimune ca lupusul eritematos sistemic, poliartrita reumatoidă etc.

REACŢIA IMUNĂ MEDIATĂ CELULAR
- TIPUL IV -

Reacţia imună specifică mediată celular este independentă de anticorpi şi complement. Ea este determinată numai de limfocite T funcţionale.

Se descriu două tipuri de reacţii efectoare:

– reacţia de hipersensibilitate tardivă;

– reacţia citolitică.

Reacţia imună mediată celular începe prin captarea şi prelucrarea antigenului după care are loc activarea limfocitelor T.

În cazul hipersensibilităţii tardive, funcţia efectoare a limfocitelor T înseamnă recunoaşterea antigenului străin, în special agenţi patogeni intracelulari, după care prin intermediul limfokinelor eliberate sunt recrutate celulele propriu-zis

Scanned with OKEN Scanner

efectoare care sunt mono şi polinuclearele, creându-se apoi un proces inflamator, cu toată evoluţia lui.

În cazul reacţiei citolitice, evenimentele de recunoaştere a antigenului, mai ales celulele infectate viral şi celulele tumorale, sunt urmate de elaborarea de perforine, substanţe cu proprietăţi citolitice faţă de celulele ţintă.

REACŢIA DE HIPERSENSIBILITATE TARDIVĂ

După interacţiunea epitopului omolog prezentat probabil de celula dendritică (ca celulă prezentatoare de antigen), o subpopulaţie T CD4+, denumită Tdth (delayed hipersensitivity), răspunde prin secreţie de limfokine, în special IFN-γ. Printre cele mai importante limfokine elaborate de limfocitele sensibilizate în urma contactului cu antigenul specific se numără:

– MIF (Migration-Inhibiting Factor), care inhibă migrarea macrofagelor;

– MAF (Macrophage-Activating Factor), care amplifică activitatea antibacteriană şi citolitică a macrofagelor;

– MCF (Macrophage Chemotactic Factor), care stimulează infiltrarea cu macrofage;

– transfer factor, ce transferă capacitatea imună mediată celular de la donatori specific sensibilizaţi la receptori nesensibilizaţi;

– LIF (Leukocyte-Inhibiting Factor) ce inhibă migrarea întâmplătoare a leucocitelor;

– IL-2 care este un factor mitogen ce stimulează creşterea limfocitelor T activate;

– TNF-β (limfotoxină) ce poate liza unele celule tumorale;

– IFN-γ, cu numeroase funcţii printre care inhibiţia replicării virale, inducerea exprimării pe suprafaţa celulelor a moleculelor MHC clasa a II-a (activându-le în proprietatea de a prezenta antigenul), creşterea exprimării receptorilor Fc pe suprafaţa macrofagelor, amplificarea activităţii celulelor NK şi altele.

În urma acestui proces, macrofagele activate secretă la rândul lor o serie de monokine care induc inflamaţie şi distrug alte celule străine, ca bacterii şi celule tumorale. Intre cele mai reprezentative monokine se numără IL-1 şi 6 care activează şi stimulează alte limfocite şi macrofage, induc febră şi cresc concentraţia unor proteine serice (proteina C-reactivă, amiloid-A, haptoglobina, ceruloplasmina şi multe fracţii de complement) ca expresie a inflamaţiei acute. In plus IL-1 creşte adezivitatea celulară ca şi TNF-α, de asemenea de origine macrofagică.

În macrofagele activate creşte producţia de metaboliţi activi ai oxigenului şi de enzime lizozomale prin care se sporeşte capacitatea antibacteriană a celulei.

În timpul procesului de activări celulare se observă o stimulare reciprocă ce se dezvoltă între macrofage şi limfocite prin intermediul citokinelor.

Prin activarea celulară ca şi prin procesul inflamator care se dezvoltă are loc îndepărtarea şi neutralizarea antigenului.

Scanned with OKEN Scanner

Exemple clinice clasice ale hipersensibilităţii tardive sunt dermatita de contact, reacţia la tuberculină, reacţia granulomatoasă.

REACŢIA CITOLITICĂ

Această reacţie este produsă de limfocitele T citolitice (Tc). Aceste limfocite au acţiune directă asupra celulelor ţintă (citotoxicitate). Ele se deosebesc de cele implicate în procesul de hipersensibilitate tardivă prin faptul că acestea din urmă acţionează indirect, prin celule intermediare pe care limfocitele Tdth le recrutează şi le activează. Limfocitele Tdth sunt T CD4+, iar cele citotoxice (TC) sunt CD8+.

Limfocitele Tc distrug numai celulele ţintă pe care le identifică antigenic. Ele explorează toate celulele organismului şi, în cazul în care recunosc antigene străine, limfocitele Tc devin active şi eliberează proteine citotoxice din granulele intracitoplasmatice. Cea mai importantă dintre proteinele citotoxice este perforina, care se integrează în membrana celulară şi prin polimerizare produce canale ce provoacă mari tulburări în menţinerea echilibrului hihro-electrolitic. Celula ţintă pierde electroliţi, se îmbibă cu apă, se umflă şi plezneşte.

Alte proteine citotoxice eliberate din granulele intracitoplasmatice includ proteaze, proteoglicani şi molecule care seamănă cu TNF.

Se consideră că în mecanismul de acţiune al limfocitelor Tc intervine şi elaborarea sau activarea unei endonucleaze care fragmentează DNA-ul celulei ţintă. După ce a produs liza celulară, limfocitul Tc se desprinde de ţintă şi acţionează asupra altor celule.

Exemple tipice ale unei reacţii citotoxice sunt citoliza care apare în timpul hepatitei epidemice ca şi participarea importantă a celulelor Tc în expulzia de grefă.

Ambele reacţii descrise pot să fie atât protectoare pentru organism, cât şi nocive în anumite condiţii date.

INFLAMAŢIA ŞI VINDECAREA

Inflamaţia a fost definită ca o reacţie a ţesuturilor vii, vascularizate, faţă de o agresiune locală. Prin inflamaţie se asigură o protecţie a organismului, agentul agresor fiind diluat, distrus sau expulzat. In acelaşi timp se pun în mişcare o serie de mecanisme complexe care vindecă sau refac ţesutul. Vindecarea începe în primele momente ale inflamaţiei, dar devine evidentă după eliminarea agentului agresor. Cele două fenomene care sunt întrepătrunse (inflamaţia şi vindecarea) pot deveni nocive în unele condiţii, atunci când reacţia inflamatorie se perpetuează sau când eforturile reparatorii dau cicatrici deformante.

Cauzele inflamaţiei sunt foarte variate. Agenţi fizici (arsură, radiaţie, traumatism), agenţi chimici (substanţe caustice), toate tipurile de reacţii imune pot induce inflamaţie, fenomen care indiferent de cauză recunoaşte mecanisme de producere foarte asemănătoare.

În funcţie de durată, inflamaţia poate fi acută sau cronică.

Scanned with OKEN Scanner

INFLAMAŢIA ACUTĂ

Procesul are o durată variabilă, de la câteva secunde până la maximum 2-3 zile. Caracterul său principal este edemul (exudat interstiţial) şi extravazarea leucocitară, în special polimorfonucleare. Semnele clinice cardinale sunt rubor, tumor, calor, dolor, functia laesa. Aceste semne clinice sunt rezultatul modificărilor hemodinamice locale, a tulburărilor permeabilităţii vasculare şi a exudării leucocitare, procese care se întrepătrund profund.

MODIFICĂRI VASCULARE

Modificările în calibrul vasului şi fluxul sanguin apar foarte rapid după lezare şi au intensităţi proporţionale cu severitatea leziunii.

După o vasoconstricţie arteriolară inconstantă şi pasageră (de câteva secunde), apare o vasodilataţie arteriolară şi deschidere de noi capilare. Circulaţia este încetinită. Staza care se dezvoltă este urmată de o creştere a permeabilităţii vasculare şi de o marginalizare leucocitară şi o migrare spre interstiţiu a acestora.

Creşterea permeabilităţii vasculare duce la exudare spre interstiţiu a unui lichid bogat în proteine de origine plasmatică. Modificările de presiuni hidrostatice suplimentează acumularea lichidiană interstiţială (edem). Permeabilitatea vasculară poate creşte reversibil datorită contracţiei celulei endoteliale, care la rândul ei este consecinţa reorganizării citoscheletului determinată de IL-1, TNF-α şi IFN-γ. Joncţiunile intercelulare se lărgesc. In cazul lezării directe (necroza) a celulei endoteliale, detaşarea ei este asociată frecvent cu tromboza. Permeabilitatea vasculară poate fi crescută şi datorită lezării celulei endoteliale de leucocitele care au aderat la ea în timpul stazei vasculare.

DIAPEDEZA ŞI FAGOCITOZA LEUCOCITARĂ

Un moment important al inflamaţiei este activitatea leucocitelor de distrugere bacteriană şi de degradare a ţesuturilor necrotizate şi a antigenelor străine. Dar leucocitele pot prelungi inflamaţia şi pot produce leziuni tisulare prin eliberarea de enzime, mediatori chimici şi radicali liberi de oxigen.

Adeziune şi transvazare. Aceste două procese sunt determinate de atracţia şi cuplarea complementară a moleculelor de adeziune de pe cele două celule implicate: celula endotelială şi leucocit. Procesul poate fi amplificat de citokine care modulează expresia şi aviditatea moleculelor de adeziune.

Moleculele de adeziune preformate sunt exprimate pe suprafaţa celulei. Histamina, trombina şi PAF (Platelet Activating Factor) induc eliberarea din granulele intracitoplasmatice (Weibel-Palade) a P-selectinei şi afişarea ei pe suprafaţa celulei endoteliale, creând atractivitate pentru leucocite.

Moleculele de adeziune sunt nou sintetizate şi exprimate pe suprafaţa celulei endoteliale sub influenţa citokinelor. IL-1 şi IFN-γ induc sinteza de E-selectină, VCAM-1 şi ICAM-1 şi exprimarea lor pe suprafaţa celulei endoteliale.

Scanned with OKEN Scanner

Moleculele de adeziune îşi sporesc aviditatea. LFA-1 prezent pe leucocite devine foarte avid pentru ICAM-1 exprimat excedentar pe celulele endoteliale sub influenţa citokinelor.

În urma dezvoltării stazei sanguine şi marginalizării leucocitare, sub influenţa citokinelor se modifică harta moleculelor de adeziune, a căror calitate implică atragerea şi transvazarea diferenţiată a tipurilor de leucocite. După traversarea endoteliului prin joncţiunile intercelulare, leucocitele trebuie apoi să traverseze şi membrana bazală. Felul leucocitelor care traversează endoteliul este diferit în funcţie de tipul inflamaţiei. In primele ore (6-24) ale inflamaţiei acute predomină polimorfonuclearele, pentru ca apoi (24-48 ore) acestea să fie înlocuite de mononucleare.

Chemotaxia şi activarea leucocitară. După traversarea peretelui vascular, leucocitele migrează spre locul leziunii. Cele mai comune substanţe chemotactice sunt produsele bacteriene, iar dintre produsele endogene trebuie menţionate mai ales C5a (fragment al fracţiei a 5-a a complemetului), LTB4 (leucotriena B4) şi o serie de citokine mai ales cele din familia IL-8. Mişcarea leucocitelor se realizează prin dezvoltarea de pseudopode determinată de modificările suferite de actină şi de miozină cu participarea ionilor de Ca.

Fagocitoza. Procesul este foarte mult uşurat de existenţa opsoninelor şi a receptorilor corespunzători de pe celulele fagocitare. Cele două grupe de opsonine sunt fragmentul Fc al moleculei de IgG şi C3b (fragmentul opsoninic al C3) şi forma sa stabilă C3bi. Receptorii corespunzători de pe leucocite sunt FcγR (pentru Fc al IgG) şi CR1, 2 şi 3 (receptorii pentru C3b şi C3bi).

După fagocitoză materialul fagocitat este degradat sau omorât. Omorârea bacteriilor este realizată în principal prin mecanisme dependente de oxigen şi prin lizozim (muramidază), lactoferină şi altele. Apoi hidrolazele acide prezente în granulele azurofile degradează materialul în fagolizozomi. Dar eliberarea acestor produşi de degradare se face nu numai în interiorul fagolizozomilor ci şi în exterior, putând povoca leziuni ale endoteliului şi ţesuturilor, amplificând efectele stimulilor inflamatori iniţiali.

MEDIATORI CHIMICI AI INFLAMAŢIEI

Evenimentele anterior descrise, la care participă celula endotelială şi leucocitele, sunt rezultatul acţiunii unor mediatori chimici a căror origine este plasmatică sau celulară. Aceştia, odată activi, se fixează pe receptorii specifici ai celulelor ţintă, unde pot induce eliberarea altor mediatori cu acţiuni modulatoare sau pot avea efecte directe. In majoritatea lor, aceşti mediatori chimici sunt substanţe cu viaţă scurtă.

Cei de origine celulară sunt fie preformaţi şi tezaurizaţi în organite citoplasmatice, fie sunt nou sintetizaţi. Din primă categorie fac parte histamina, serotonina, enzimele lizozomale.

Histamina se găseşte în concentraţie mare în granulele mastocitelor (celule localizate predilect în ţesutul conjunctiv adiacent vaselor sanguine), bazofilelor sau trombocitelor. Ea este eliberată de stimuli fizici (traumă, frig, căldură, radiaţii), de fixarea unor complexe imune sau a unor fragmente active ale complementului

Scanned with OKEN Scanner

(C3a, C5a) pe suprafaţa celulară, de unele citokine (IL-1, IL-8) etc. Ea produce la om vasodilataţie arteriolară şi creşte permeabilitatea vasculară venulară, acţionând în principal pe receptorii H1.

Serotonina are acţiuni similare histaminei. Ea se găseşte în trombocite şi în celulele enterocromafine. Eliberarea din trombocite se face în urma contactului cu colagenul, trombina, adenozin difosfat (ADP), în urma agregării plachetare sau a fixării nespecifice a complexelor imune de către acestea.

Între mediatorii chimici de origine celulară nou sintetizaţi se înscriu derivaţii acidului arahidonic, provenit din fosfolipidele membranare sub influenţa unei enzime, fosfolipaza, enzimă care este inhibată de steroizii antiinflamatori. Evoluţia metabolică a acidului arahidonic se poate face sub influenţa lipooxigenazei (se produc leucotriene, LT) sau ciclooxigenazei (se produc prostaglandine, PG). Dintre leucotriene trebuie reţinete LTB4, substanţă foarte puternic chemotactică şi complexul LTC4, D4, E4 cu proprietăţi vasoconstrictoare, bronhoconstrictoare şi de creştere a permeabilităţii vasculare. Sub influenţa ciclooxigenazei (enzimă inhibată de aspirină, indometacin şi de alte antinflamatorii nonsteroidiene) se formează PG dintre care cu rol mai important sunt prostaciclina (PGI2) care provoacă vasodilataţie şi inhibă agregarea plachetară, tromboxanul A2 (TXA2) care provoacă vasoconstricţie şi agregare plachetară şi moleculele PGD2, E2, F2α, cu proprietăţi vasodilatatoare şi de creştere a permeabilităţii vasculare.

În aceeaşi categorie de mediatori chimici de origine celulară, nou sintetizaţi, mai trebuie menţionaţi factorul de activare plachetară (Platelet-Activating Factor PAF), o serie de citokine şi oxidul nitric (NO).

PAF are multiple efecte proinflamatorii. El induce agregare plachetară, provoacă vaso şi bronhoconstricţie, creşte aderenţa leucocitară la endoteliu, creşte chemotaxia şi altele.

Între citokine, cu rol important se numără IL-1, TNF α şi β şi familia IL-8.

IL-1 şi TNF-α sunt produse de macrofagele activate. Efectul lor major se exercită asupra celulei endoteliale (sinteza de molecule de adeziune, alte citokine, factori de creştere, activitate procoagulantă, oxid nitric), leucocitelor (agregare şi aderenţă) şi fibroblastului (creşterea proliferării, a sintezei de colagen, a sintezei de PGE, a activităţii proteazice). Ambele citokine sunt implicate în apariţia fazei acute a inflamaţiei (febră, anorexie, creşterea proteinelor serice specifice etc).

IL-8 este un polipeptid mic care este secretat de macrofagele activate şi de alte celule (de exemplu: endoteliale) cu proprietăţi chemotactice şi activatoare pentru PMN.

Oxidul nitric (NO) este cunoscut şi sub numele de EDRF (Endothelium-derived relaxing factor). El este un gaz produs de celulele endoteliale, de macrofage şi de neuronii cerebrali. Produce vasodilataţie, adeziune şi agregare plachetară.

Mediatorii chimici ai inflamaţiei a căror origine este plasmatică înscriu în rândul lor fracţii activate ale complementului (C3a, C5a, C5b-9) şi elemente ale sistemelor plasmatice activate de factorul Hageman (sistemul kininelor şi al coagulării/fibrinolizei).

Scanned with OKEN Scanner

Sistemul kininelor activat finalizează în producerea de bradikinină, substanţă ce creşte permeabilitatea vasculară, provoacă contracţia muşchiului neted, vasodilataţie. Kalikreina, enzimă cardinală a sistemului kininelor, are conexiuni funcţionale cu sistemul complementului.

Sistemul coagulării/fibrinolizei cu componentele lor participă la procesul inflamator. De exemplu, trombina participă la procesul inflamator, crescând aderenţa leucocitară şi proliferarea fibroblaştilor. Plasmina, datorită proprietăţilor sale proteazice, are influenţe asupra multor sisteme plasmatice.

INFLAMAŢIA CRONICĂ

Inflamaţia cronică este considerată o inflamaţie de lungă durată (săptămâni sau luni) în care elemntele de inflamaţie activă, distrucţiile tisulare şi elementele de vindecare se derulează simultan. În general, ea se produce în cazul unor infecţii persistente, a unei expuneri prelungite la agenţi toxici exogeni sau endogeni, în cazul unor boli autoimune.

Inflamaţia cronică se caracterizează prin infiltrare cu mononucleare (macrofage, limfocite, plasmocite), distrugeri tisulare induse de celulele inflamatorii, repararea şi înlocuirea cu ţesut conjunctiv (angiogeneză şi fibroză).

INFILTRATUL MONONUCLEAR

Primele monocite sunt identificate în focarul inflamator la circa 48 ore. Apoi numărul lor creşte. Traversarea peretelui vascular este determinată de moleculele de adeziune afişate de celula endotelială. Odată ajunse în ţesuturi, monocitele devin macrofage. Ele sunt apoi activate, proces prin care cresc în dimensiune, le creşte nivelul de enzime lizozomale, au un metabolism mai activ, capacitatea lor de fagocitoză creşte, ca şi capacitatea de distrugere a germenilor fagocitaţi. Aceste modificări sunt induse macrofagului de mai multe elemente, printre care se numără citokine elaborate de limfocitul T în urma contactului cu antigenul (de ex IFN-γ), endotoxine bacteriene, fibronectin etc. Odată activate, macrofagele devin sursă majoră de citokine al căror efect direct sau indirect este concretizat în distrucţie tisulară, proliferare vasculară, fibroză.

În inflamaţia cronică are loc o acumulare continuă de monocite în focarul inflamator. Acest fenomen este rezultatul unei recrutări permanente de monocite din circulaţie şi unei imobilizări a lor la locul inflamaţiei. Aceasta este posibil datorită stimulilor elaboraţi de macrofagele existente, de limfocitele activate, de celulele endoteliale, de colagen, de fibronectin. In unele condiţii macrofagele proliferează local, crescând astfel numărul lor.

Produsele biologic active elaborate de macrofagele odată activate au proprietăţi toxice faţă de elementele fagocitate, faţă de matrixul extracelular şi au

Scanned with OKEN Scanner

BIBLIOTECA U.M.F. IAŞI
Cota III 8896

capacităţi de modificare a comportamentului altor celule, aceasta prin intermediul gamei largi de citokine pe care le secretă. Cele mai importante relaţii ale macrofagelor activate sunt cu limfocitele (mai ales T), cu PMN, cu eozinofilele, cu celula endotelială, cu fibroblastul.

FIBROZA

Repararea leziunilor produse de inflamaţie se face fie cu regenerarea celulelor nobile distruse, acolo unde ţesuturile au această capacitate, fie cu fibroză.

Fibroza începe cu formare de vase noi, neoangiogeneză. In acest proces sunt implicaţi în mod principal un factor de creştere fibroblastică (Fibroblast Growth Factor FGF) şi un factor de creştere endotelială (Vascular Endothelial Growth Factor VEGF), ambii produşi de macrofagele activate.

Migrarea fibroblaştilor la locul inflamaţiei ca şi proliferarea lor sunt declanşate de o serie de citokine şi factori de creştere (PDGF, EGF, FGF, TGF etc.). Aceşti factori stimulează sinteza de colagen şi de metalproteinaze, enzime implicate în degradarea matrixului extracelular. Dintre factorii menţionaţi, cu importanţă majoră este TGF-β (Transforming Growth Factor), care este produs în special de macrofage şi plachete. El este implicat şi în chemotaxia monocitară.

GRANULOMUL

Granulomul este un tip distinct de reacţie inflamatorie cronică, cu celularitate dominată de macrofage activate dintre care unele cu aspect modificat (celule epitelioide). Acest miez granulomatos format din macrofage unice, sau agregate ca celule epitelioide, este înconjurat în principal de o coroană de limfocite şi puţine plasmocite. La granuloamele vechi se identifică un contur format din fibroblaşti şi ţesut conjunctiv, iar câteodată se întâlnesc celule gigante rezultate din fusiunea celulelor epitelioide.

Sunt două forme de granuloame, unul de corp străin, a cărui formare este indusă de substanţe inerte şi altul imun. Formarea granulomului imun este determinată de prezenţa unor particule nedigerabile de microorganisme (de exemplu bacilul tuberculos) şi de imunitatea mediată celular faţă de acest antigen.

IFN-γ produs de limfocitele T activate este responsabil de transformarea macrofagelor în celule epitelioide şi celule gigante multinucleate.

EFECTELE SISTEMICE ALE INFLAMAŢIEI

Febra este unul dintre cele mai frecvente efecte sistemice. In plus inflamaţia este responsabilă de scăderea apetitului, creşterea degradării proteice, hipotensiune, de sinteza hepatică a proteinelor fazei acute (proteina C-reactivă,

Scanned with OKEN Scanner

amiloidul seric A, şi altele). De toate aceste modificări sunt responsabile o serie de citokine dintre care sunt de reţinut IL-1, IL-6, TNF, care direct sau indirect produc aceste modificări.

BIBLIOGRAFIE

BENJAMINI E., LESKOWITZ S. - *Immunology, a short course* -Wiley Liss Ed. 1995 New York.

COTRAN R.S.,KUMAR V.,ROBBINS S.L. - *Robbins Pathologic basis of diseases* - Saunders Ed, 1994, Philadelphia.

FRANK K.M.,AUSTEN K.F.,CLAMAN H.N.,UNANUE E.R. -*Samters Immunologic Diseases* Little Brown Ed.,1995, Boston, vol .I.

HYDE R.M. - *Immunology* - NMS Harwal Ed.,1992, Baltimore.

JANEWAY C.A.,TRAVERS P. - *Immunobiology* - Garland Ed., 1996, New York

KELLEY W.N.,HARRIS E.D.,RUDDY S.,SLEDGE C.B. - *Textbook of Rheumatology* vol. 1, Saunders Ed.,1997, Philadelphia.

POPESCU E.- *Mecanisme imune în medicina internă* - Ed. Ştiinţifică şi Enciclopedică, 1986, Bucureşti.

REVILLARD J.P. - *Immunologie* - DeBoeck Universite Ed., 1994, Lyon.

SELL S. - *Immunology Immunopathology and Immunity* - Elsevier Ed., 1987, New York.

STITES D.P.,TERR A.I.,PARSLOW T.G. - *Basic & Clinical Immunology* - Appleton & Lange Ed., 1994.

Scanned with OKEN Scanner